

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application: 2002年11月 5日

出願番号

Application Number: 特願2002-321887

[ ST.10/C ]:

[ JP2002-321887 ]

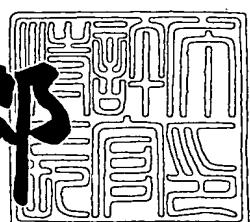
出願人

Applicant(s): 株式会社林原生物化学研究所

2003年 2月14日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

太田 信一郎



出証番号 出証特2003-3007533

【書類名】 特許願

【整理番号】 10097201

【特記事項】 特許法第30条第1項の規定の適用を受けようとする特許出願

【あて先】 特許庁長官 太田 信一郎 殿

【国際特許分類】 C07K 14/705  
C12N 5/16  
C12N 15/06  
G01N 33/00

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 有安 利夫

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 松本 修二

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 京野 文代

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 花谷 利春

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 新井 成之

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 池田 雅夫

【発明者】

【住所又は居所】 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号 株式会社林原生物  
化学研究所内

【氏名】 栗本 雅司

【特許出願人】

【識別番号】 000155908

【氏名又は名称】 株式会社林原生物化学研究所

【代表者】 林原 健

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 035736

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 トレハロース受容体並びにそれを用いるトレハロースの検出方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列表における配列番号1、2、3及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質、又は、配列表における配列番号1、4及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質からなる哺乳動物のトレハロース受容体。

【請求項2】 請求項1に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞。

【請求項3】 配列表における配列番号1、2、3及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質をコードするDNA、又は、配列表における配列番号1、4及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質をコードするDNAを組み込んだ発現ベクターを動物細胞に導入する工程を含む、トレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞の製造方法。

【請求項4】 請求項1に記載のトレハロース受容体又は請求項2に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞を用いることを特徴とするトレハロースの検出方法。

【請求項5】 トレハロース受容体にトレハロースが結合することによって起こる生化学的反応を検出することを特徴とする請求項4に記載のトレハロースの検出方法。

【請求項6】 生化学的反応の検出が、カルシウムイオンの流入を測定することによって行われる請求項5に記載のトレハロースの検出方法。

【請求項7】 請求項2に記載のトレハロース受容体を人為的に発現させた動物細胞と、カルシウムイオンの検出試薬を含んでなるトレハロースの検出キット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、哺乳動物におけるトレハロース受容体並びにトレハロース受容体を

用いるトレハロース検出方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】

【非特許文献1】日本食品科学工学会誌、第45巻、第6号、381-384頁、1998年

【非特許文献2】サイエンス、289巻、116-119頁、2000年

【非特許文献3】ネイチャー、413巻、13号、211-225頁、2001年

【非特許文献4】セル、106巻、381-390頁、2001年

【非特許文献5】ネイチャー、416巻、14号、199-202頁、2002年

【0003】

トレハロースは、澱粉原料からの生産技術が確立されたことにより、安価に製造可能となり、トレハロースを配合した食品や化粧品が市場に出回るようになった。近年、消費者保護の観点から、食品や化粧品などの配合成分のデータを表示することが求められるようになり、これはトレハロースについても同様であって、表示の正当性を確認するためにも、食品や化粧品中のトレハロースを検出する方法が必要である。従来提案されているトレハロースの検出方法としては、非特許文献1で開示される検出方法、すなわち、食品などから糖類を抽出し、それをトリメチルシリル誘導体化した後、ガスクロマトグラフィーにより分離してトレハロースの含有量を計測するというものがある。この方法は、多くの食品に適用可能であり、ppm単位の精度で測定可能であるものの、試料から糖質成分を抽出精製する工程、トリメチルシリル誘導体化が必要であり、操作が煩雑であってより簡単な方法が求められている。

【0004】

トレハロースは、砂糖の45%の甘味度を舌により体感できることから、舌の味蕾に存在する味覚細胞により感知されていると考えられるので、トレハロース受容体の存在が示唆され、この受容体を用いれば、トレハロースの検出をより容易かつ簡便に行うことが可能になるものと思われるが、ヒトを含めた哺乳動物に

おけるトレハロース受容体は、その存在が未だ知られていない。すなわち、非特許文献2で開示されるように、ショウジョウバエにおいては、トレハロース受容体がクローニングされているが、本発明者等が得た知見によれば、ショウジョウバエのトレハロース受容体のDNA配列を利用して、マウスの舌組織からmRNAを調製し、遺伝子クローニングを試みたところ、ショウジョウバエで発見されたトレハロース受容体蛋白質に相当する蛋白質はマウスなどの哺乳動物において発見することはできなかった。

## 【0005】

非特許文献3には、スクロースの受容体をはじめとするさまざまな味覚に関する受容体が明らかにされ、例えば、非特許文献4で開示される甘味受容体としては、T1R2とT1R3のヘテロ2量体であるスクロース受容体や、非特許文献5で開示されるT1R1とT1R3のヘテロ2量体であるL-アミノ酸受容体が開示されている。また、非特許文献4には、G蛋白質の $\alpha$ サブユニットである、 $\alpha 15$ 、 $\alpha 16$ 及び $\alpha 2$ が上記甘味受容体の反応に関与していることが記載されている。しかしながら、これらの文献はいずれもトレハロースの受容体については何らの教示を与えるものでない。

## 【0006】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明は、上記のような背景の下に為されたもので、哺乳動物におけるトレハロース受容体を解明するとともに、それを用いて、抽出精製工程や誘導体化を必要とせず、試料中のトレハロースを直接的にかつ容易に検出する方法を提供することを課題とするものである。

## 【0007】

## 【課題を解決するための手段】

本発明者等は、哺乳類におけるトレハロース受容体を解明すべく、研究を重ねた結果、意外にも、哺乳動物においては、スクロース受容体の一部とG蛋白質の $\alpha$ サブユニットとが組み合わさって、トレハロース受容体を形成していることを見出し、また、このトレハロース受容体を用いれば、トレハロースを特異的に、かつ、定量的に検出可能であることを確認し、本発明を完成するにいたった。

## 【0008】

すなわち、本発明は、哺乳動物におけるトレハロース受容体を提供するとともに、トレハロース受容体を発現させた細胞及びそれを用いたトレハロース検出方法を提供することにより、上記課題を解決するものである。

## 【0009】

## 【発明の実施の形態】

本発明が明らかにしたトレハロース受容体とは、G蛋白質 $\alpha$ サブユニットの一種である $\alpha$ 15（配列表における配列番号1）、 $\alpha$ 16（配列表における配列番号2）、 $\alpha$ Z（配列表における配列番号3）を共発現させた細胞、若しくは、 $\alpha$ 15（配列表における配列番号1）とともに、モーディーら、モレキュラーフarmacology（Molecular Pharmacology）、第57巻、13-23頁、2000年に開示される $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質（配列表における配列番号4）を共発現させた細胞において、甘味受容体の一つであるT1R3（配列表における配列番号5）を発現させることにより、細胞膜上に形成される新規な組み合わせの味覚受容体である。本発明で用いられるG蛋白質 $\alpha$ サブユニットやT1R3蛋白質は、哺乳動物由来であれば、特にそれら由来の動物種は限定されず、また、各蛋白質がそれぞれ異なる動物種のものとなってもよい。これらの蛋白質のアミノ酸配列及びそれをコードするDNA配列については、遺伝子データバンク、例えば「GENBANK」などに開示されるものを利用することができます。とりわけ、T1R3蛋白質及び $\alpha$ 15がマウス由来、 $\alpha$ 16及び $\alpha$ Zがヒト由来であるものが、感度に優れるので好ましい。さらに、トレハロースを感受することができる範囲内で、各蛋白質においてアミノ酸の欠失、置換、付加があってもよい。また、これらの蛋白質を、例えば、T1R3に $\alpha$ 15、 $\alpha$ 16、 $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質を連結して発現させたり、それぞれの蛋白質を同一のベクターで発現させることができる。なお、上記の $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質（配列表における配列番号4）は、受容体発現に必要な遺伝子数を減じる効果があり、本発明に有利に利用できる。

## 【0010】

本発明で用いられるトレハロース受容体を発現させる細胞としては、種類、由

来動物などを問わず、本発明のトレハロース受容体が細胞膜上に形成され、かつ、それがトレハロースと結合又は反応することによって、細胞がなんらかの反応を示す限り、どのような細胞を用いてもよい。トレハロースに対する特異性を高めるために、味覚細胞などの味覚受容体を有する細胞を避け、味覚受容体を有しない細胞を用いるのが好ましい。とりわけ、ヒト胎児腎臓上皮細胞由来の293細胞株（理研ジーンバンク、RCB1637）は、味覚受容体を有しておらず、また、後述する細胞内カルシウムイオンの検出が比較的容易に行えるので、本発明において有利に用いられる。

#### 【0011】

本発明で用いられるトレハロース受容体を発現させる方法としては、まず、上記の受容体蛋白質をコードするDNA、つまり、例えば、配列番号1乃至5に開示されるアミノ酸配列をコードするDNAを入手する必要がある。DNAを入手する方法としては、DNAの全部又は一部を化学合成により合成する方法、動物のゲノムDNA、mRNA若しくはcDNAから、ハイブリダイゼーション法やPCR法により選別採取する方法などが挙げられ、それらを適宜組み合わせて本発明に必要なDNAを得ることができる。

#### 【0012】

上記のDNAにコードされるトレハロース受容体蛋白質を細胞膜上に発現させるには、適宜の動物細胞発現用発現ベクターに組み込み、哺乳動物細胞に導入すればよい。発現ベクターとしては、通常、動物細胞に用いられる発現ベクターを適宜選択すればよく、適宜の薬剤耐性遺伝子、発現プロモーター領域、ポリアデニル化部位、ポリリンカー、制限酵素切断部位、エンハンサー領域などを配した発現ベクターを用いることができ、プラスミドベクター、ウイルスベクター、コスミドベクターなど、どのような種類のベクターをも用いることができる。また、発現形態が一過的な発現であっても、恒常的な発現であってもよく、目的に応じて適宜選択すればよい。また、各G蛋白質及び受容体蛋白質をコードするDNAをそれぞれ単一の発現ベクターに組み込んでも、単一の発現ベクター上に複数種のG蛋白質及び受容体蛋白質をコードするDNAを組み込んで発現させてもよい。

## 【0013】

本発明によるトレハロースの検出方法は、スクロース受容体の一部とG蛋白質 $\alpha$ サブユニットの一部との新規な組み合わせによるトレハロース受容体を膜表面に発現させた動物細胞に対して、トレハロースが含まれていると想定される試料を添加し、その中に含まれるトレハロースがトレハロース受容体と結合することによって引き起こされる生化学的な反応を測定することにより、試料中のトレハロースを検出するというものである。本発明に用いられる生化学的な反応としては、細胞内シグナル伝達系に関与する反応が挙げられ、それに関わる物質、例えば、サイクリックAMP、サイクリックGMP、サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ、プロテインキナーゼC、カルシウムイオンなどの量の増減を測定する方法が挙げられる。とりわけ、カルシウムイオンの流入を測定する方法が最も簡便かつ感度に優れる有力な手法であり、本発明において有利に実施できる。

## 【0014】

細胞内におけるカルシウムイオンの測定方法としては、カルシウムイオンと結合することにより、蛍光を発する試薬、例えば、モレキュラープローブス社販売の商品名『Fluo-4, AM』などの細胞内におけるカルシウムイオン検出用試薬が挙げられ、反応させることによって発せられる蛍光を、市販のプレート式、キュベット式、フローサイトメトリー式の蛍光検出装置により測定する方法、蛍光顕微鏡などで肉眼的に観察する方法などが挙げられる。

## 【0015】

本発明のトレハロースの検出方法によれば、様々な食品又は化粧品などを被検対象品として、それらに含有されるトレハロースを特異的に測定することができる。被検対象品が固体、ペースト、ゲル又は親油性液体ならば、水性溶媒により被検対象品に含まれるトレハロースを溶解し、不溶物質を除去して試料とする。また、被検対象が親水性液体ならば、そのまま、あるいは、いったん乾燥固化したもの水性溶媒で再溶解したものを用いることもできる。また、例えば、細胞毒性を有する物質、ミネラル、又は色素などの、トレハロースの検出に支障のある不純物質が試料中に混在する場合は、適宜の分離方法、例えば、活性炭吸着法

、有機溶媒抽出法、遠心分離法、膜濾過法、ゲル濾過法、イオン交換クロマトグラフィー法、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー法、疎水性クロマトグラフィー法などの方法で、また、不純物質を適宜の酸、アルカリ、還元剤、酸化剤などの薬剤、分解酵素などで処理し、試料からトレハロース以外の不要な物質を除去することもできる。また、必要ならば、トレハロース分解酵素であるトレハラーゼを処理した試料を陰性対象として用いれば、より正確なトレハロース含量が測定可能であり、特にバックグラウンドが高い場合は有利となる。本発明によるトレハロースの検出方法における検出感度は、試料溶液中におけるトレハロース濃度で5mM以上乃至500mMの範囲で測定可能である。したがって、試料溶液中のトレハロース濃度がこの範囲内でない場合は、試料を段階的に濃縮又は希釈することによって、上記測定範囲内になるように調節すればよい。

## 【0016】

本発明のトレハロースの検出方法は、上記の食品や化粧品に含まれるトレハロースの含量を測定することに用いられるほか、例えば、トレハロースなどの糖質を誘導体化することによる甘味度の増減効果を検討するといった、新規甘味料の検索にも利用できる。

## 【0017】

以下、実施例により、本発明を詳細に説明する。

## 【0018】

## 【実施例1】

〈G蛋白質αサブユニット蛋白質発現用ベクターの構築〉

## 【0019】

## 【実施例1-1】

〈G蛋白質αサブユニット蛋白質α15をコードするDNAの調製〉

マウス骨髓性白血病由来細胞株WEHI-3 (ATCC No. TIB-68) から、常法にしたがい、mRNAを含むRNAを抽出精製し、このRNA 1μgから、12.5pmolのランダムヘキサマーをプライマーとして、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプトII RT』で、42°Cで50分間反応することにより、第1ストランドcDNAを合成した。引き続

き、リボヌクレアーゼIにより混在するRNAを酵素分解し、PCRの鑄型用のcDNAを得た。また、G蛋白質 $\alpha$ サブユニット $\alpha$ 15DNA（配列表の配列番号6）の5'末端のDNA配列に制限酵素HindIII切断部位を含む塩基配列を付加したPCR用センスプライマー（配列表の配列番号7）、3'末端のDNA配列に制限酵素NotI切断部位を含む塩基配列を付加したPCR用アンチセンスプライマーを作製した（配列表における配列番号8）。上記cDNA及びPCR用プライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性DNAポリメラーゼである商品名『LA Taq DNAポリメラーゼ』により、常法にしたがいPCRを行い、G蛋白質 $\alpha$ 15をコードするDNAを得た。

## 【0020】

## 【実施例1-2】

<G蛋白質 $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質をコードするDNAの調製>

ヒト骨髓性白血病由来細胞株HL-60 (ATCC No. CCL-240) 又はU937 (ATCC No. CRL-1593.2) から、常法にしたがい、mRNAを含むRNAを抽出精製し、このRNA 1  $\mu$ gから、12.5 pmolのランダムヘキサマーをプライマーとして、常法にしたがい、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプトIII RT』で、42°Cで50分間反応することにより、第1ストランドcDNAを合成した。引き続き、常法にしたがい、リボヌクレアーゼIによりRNAを酵素分解し、PCRの鑄型用のcDNAを得た。また、G蛋白質 $\alpha$ 16DNA（配列表の配列番号9）及びG蛋白質 $\alpha$ ZDNA（配列表の配列番号10）を得るべく、 $\alpha$ 16の開始コドン付近のDNA配列、すなわち塩基番号202から221までの配列の5'側に、制限酵素HindIII切断部位を付加したPCR用センスプライマー（配列表の配列番号11）、 $\alpha$ 16の塩基番号1196から1211までの相補配列の5'側に $\alpha$ Zの塩基番号946から960までの相補配列を付加したアンチセンスプライマー（配列表の配列番号12）を作製した。一方、 $\alpha$ ZDNAを得るべく、配列表における配列番号10の塩基番号946から960までの配列の5'側に $\alpha$ 16の塩基番号1195から1211までの配列を付加したPCR用センスプライマー（配列表の配列番号13）、 $\alpha$ Zの塩基番号1068から1086まで

の相補配列の5'側に制限酵素N o t I 切断部位を付加したアンチセンスプライマー（配列表の配列番号14）を作製した。これらcDNA及びPCRプライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性DNAポリメラーゼである商品名『L A T a q DNAポリメラーゼ』により、常法にしたがいそれぞれPCRを行い、G蛋白質 $\alpha$ 16及びG蛋白質 $\alpha$ ZをコードするDNAを得た。これらを混ぜ合わせ、熱変成した後、オーバーラップした部分をアニーリングさせた後、さらにPCRを行い、約1200bpの $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質をコードするDNAを得た。

## 【0021】

## 【実施例1-3】

〈G蛋白質 $\alpha$ 15及び $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質を共発現するベクターの構築〉

発現ベクターとして、ピューロマイシン耐性遺伝子、E F - 1  $\alpha$ （延長因子）プロモーターなどを有するエッジ・バイオシステムズ社販売のプラスミドベクターp E A K 1 2を採用し、その制限酵素S p e I 切断部位に制限酵素E c o R V 切断部位を付加した発現ベクターp E A K S 1、及びp E A K S 1の制限酵素切断部位B a m H I にさらにE c o R V 制限酵素切断部位を付加させた発現ベクターp E A K S 2を常法にしたがい調製した。まず、実施例1-1で得たG蛋白質 $\alpha$ 15蛋白質をコードするDNA又は実施例1-2で得たG蛋白質 $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質をコードするDNAを、それぞれ制限酵素H i n d I I I 及びN o t I で消化し、p E A K S 1又はp E A K S 2のH i n d I I I 及びN o t I の位置に常法にしたがってライゲーションし、G蛋白質 $\alpha$ 15蛋白質をコードするDNAが挿入されたp E A K S 1、及び、G蛋白質 $\alpha$ 16/Z蛋白質をコードするDNAが挿入されたp E A K S 2を得た。次に、G蛋白質 $\alpha$ 16/Z蛋白質をコードするDNAが挿入されたp E A K S 2を制限酵素E c o R V で消化し、プロモーター領域とともにG蛋白質 $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質をコードするDNA配列を含むDNA断片を調製し、それをG蛋白質 $\alpha$ 15蛋白質をコードするDNAが挿入されたp E A K S 1のE c o R V 制限酵素切断部位に、常法にしたがってライゲーションし、G $\alpha$ 15及びG $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質を共発現するベクター『p E A K / E F 2 - G $\alpha$  (15 + 16 / Z)』を得た（図1参照）。なお、使用

した PCR プライマーの一覧表を表 1 に示す。

[0 0 2 2]

【表 1】

【0023】

### 【実施例 2】

## ＜マウス甘味受容体蛋白質発現用ベクターの構築＞

【0024】

### 【实施例 2-1】

### ＜T1R1、T1R2及びT1R3 DNAの調製＞

野生型C57BL/6マウス16匹より舌組織約2.4gを採取した。常法にしたがって、マウス舌由来のmRNAを含むRNAを調製した。この1μgから、12.5pmolのランダムヘキサマーをプライマーとして、常法にしたがい、ストラタジーン製の逆転写酵素である商品名『スーパースクリプトIII RT』で、42℃で50分間反応することにより、第1ストランドcDNAを合成した。引き続き、常法にしたがい、リボヌクレアーゼIによりRNAを酵素分解し、PCRの鑄型用のcDNAを得た。次に、マウス由来の甘味受容体T1R1（

配列表における配列番号16)、T1R2(配列表における配列番号17)及びT1R3(配列表における配列番号18)のDNAを得るために、GENBANKデータベースに登録されているDNA配列をもとに、開始コドン付近の塩基配列に制限酵素EcoRI切断部位を付加したセンスプライマー、及び、終始コドン付近の相補塩基配列に制限酵素NotI切断部位を付加したアンチセンスプライマーを作製した。上記cDNA及びPCR用プライマーを用いて、宝酒造株式会社販売の熱耐性DNAポリメラーゼである商品名『LA Taq DNAポリメラーゼ』により、常法にしたがいPCRを行い、5'末端に制限酵素EcoRI切断部位を、3'末端に制限酵素NotI切断部位を有する、T1R1、T1R2及びT1R3をコードするDNAを得た。

## 【0025】

## 【実施例2-2】

## &lt;甘味受容体発現ベクターの構築&gt;

発現ベクターは、実施例1-3で用いた発現ベクターpEAKS1において、薬剤耐性遺伝子であるピューロマイシン耐性遺伝子をネオマイシン耐性遺伝子(インビトロジェン社販売の発現ベクターpREP9由来)に組み替えた発現ベクター「pEAKSN1」を常法により作製した。単独発現の場合には、実施例2-1で得たDNAをそれぞれ、制限酵素EcoRI及びNotIで消化し、pEAKSN1のEcoRI及びNotIの位置に常法にしたがってライゲーションし、甘味受容体T1R1、T1R2又はT1R3用の発現ベクターを得た(図2参照)。共発現の場合には、pEAKS2のEcoRI及びNotIの位置にいずれかの甘味受容体を導入した発現ベクターを、制限酵素EcoRVで消化して、プロモーター領域及び甘味受容体蛋白質をコードするDNAを含むDNA断片を調製し、これを甘味受容体蛋白質をコードするDNAを含むpEAKSN1のEcoRV制限酵素切断部位に、常法にしたがってライゲーションし、T1R1及びT1R2共発現ベクター、T1R1及びT1R3共発現ベクター、及びT1R2及びT1R3共発現ベクターを得た。なお、使用したPCR用プライマーの一覧表を表2に示す。

## 【0026】

【表2】

| 甘味受容体 | GENB<br>ANK<br>アクセ<br>ス番号 | 由来  | PCR用プライマー                                       | 配列表<br>におけ<br>る配列<br>番号 | 備考                       |
|-------|---------------------------|-----|---|-------------------------|--------------------------|
|       |                           |     | 5'  | 3'                      |                          |
| T1R1  | AY03<br>2622              | マウス | GGAATTC—<br>ATGCTTTCTGGCAGCTCACC                | 配列番<br>号19              | EcoRI—<br>T1R1(1-22)     |
|       |                           |     | GCATTACGATGCGGCCGC—<br>TCAGGTAGTGCCGCAGCGCC     | 配列番<br>号20              | NotI—<br>T1R1(2510-2529) |
| T1R2  | AY03<br>2623              | マウス | GGAATTC—<br>ATGGGACCCCAGGCGAGGAC                | 配列番<br>号21              | EcoRI—<br>T1R2(1-20)     |
|       |                           |     | GCATTACGATGCGGCCGC—<br>CTAGCTCTCCTCATCGTAG      | 配列番<br>号22              | NotI—<br>T1R2(2511-2532) |
| T1R3  | AY03<br>2621              | マウス | GGAATTC—<br>ATGCCAGCTTGGCTATCATGG               | 配列番<br>号23              | EcoRI—<br>T1R3(1-22)     |
|       |                           |     | GCATTACGATGCGGCCGC—<br>TCATTCATTGTGTTCCCTGAGCTG | 配列番<br>号24              | NotI—<br>T1R3(2555-2577) |

【0027】

## 【実施例3】

## &lt;各種甘味受容体発現細胞の調製&gt;

実施例1-3で得たG蛋白質 $\alpha$ 15、 $\alpha$ 16／乙キメラ蛋白質（以下、「G蛋白質 $\alpha$ サブユニット」という）を共発現するベクターを、ヒト胎児腎臓上皮由来293細胞株（理研ジーンバンク、RCB No1637）に、常法のリポフェクション法により遺伝子導入した。導入細胞は、ピューロマイシン（エッジ・バイオシステムズ社販売、商品名『ピューロマイシン』）1mg／1を含有する10%ウシ胎児血清含有のダルベッコ改変最小培地（D-MEM）で細胞濃度 $2 \times 10^6$ 個／mlで懸濁したのち、プラスチックシャーレで培養した。10～14日後、ピューロマイシン耐性の細胞コロニーを回収し、mRNAレベルでのG蛋白質 $\alpha$ サブユニットの発現を確認して、G蛋白質 $\alpha$ サブユニット発現細胞株を得た。この細胞に、実施例2-2で調製した甘味受容体であるT1R1、T1R2又はT1R3を単独発現用の発現ベクター、T1R1及びT1R2、T1R1及びT1R3、又は、T1R2及びT1R3を共発現用の発現ベクターを常法のリ

ポフェクション法で遺伝子導入した後、『ピューロマイシン』1mg／1及び『ジェネチシン』500mg／1を含有する10%ウシ胎児血清を有するD-MEMに懸濁し、細胞培養用プラスチックシャーレで培養した後、10～14日後、両薬剤耐性の細胞コロニーを回収し、導入した遺伝子が想定したとおりに発現していることを常法のRT-PCR法により、mRNAレベルでの発現を確認し、G蛋白質と甘味受容体が発現している細胞を得た。なお、対照として、G蛋白質又は甘味受容体遺伝子を含まない発現ベクターのみを導入したものを用意した。

## 【0028】

## 【実施例4】

## &lt;甘味受容体でのトレハロース及びスクロース反応性テスト&gt;

常法の細胞内カルシウムイオン測定方法にしたがって測定した。すなわち、実施例3で調製したG蛋白質及び甘味受容体を発現している293細胞をプラスチックシャーレでコンフルエント状態まで培養した後、0.05%トリプシン、0.53mM EDTA溶液により剥離させ、10%ウシ胎児血清を含有するD-MEM培地に細胞濃度 $1 \times 10^6$ 個／mlに懸濁し、細胞内カルシウム検出試薬であるモレキュラープローブス社販売の商品名『Fluo-4. AM』を最終濃度2μMとなるように添加し、37℃で30～90分間培養することにより、カルシウム検出試薬『Fluo-4. AM』を細胞内に取り込ませた。これを、10mM HEPES (pH 7.4)、130mM塩化ナトリウム、5.4mM塩化カリウム、2mM塩化カルシウム、1mM塩化マグネシウム、5.5mM D-グルコース、0.1%ウシ血清アルブミン、1mMピルビン酸ナトリウムを含有するカルシウムイオン測定用緩衝液で洗浄し、細胞外の試薬を除去し、同緩衝液で細胞濃度 $2.67 \times 10^7$ 個／mlに懸濁し、100μmメッシュで濾過し、25℃で30分静置した後、ガラスキュベット（日立製作所（株）販売）に細胞懸濁液を2ml入れ、蛍光分光強度計（日立製作所（株）製造、商品名『HITACHI 650-40』にセットした。

## 【0029】

試料の糖質として、トレハロース（片山化学工業（株）販売）、対照として、スクロース（和光純薬工業（株）販売）を、上記のカルシウムイオン測定用緩衝

液で1Mに溶解した。これを上記の細胞懸濁液の入ったガラスキュベットに0.67ml添加し、攪拌した後、励起波長494nm、蛍光波長516nmでの蛍光強度を測定し、反応性の有無を調べた。結果を表3に示す。

## 【0030】

【表3】

| 甘味受容体 |      |      | G蛋白質<br>αサブユニット | カルシウムイオンの<br>流入 |           |
|-------|------|------|-----------------|-----------------|-----------|
| T1R1  | T1R2 | T1R3 |                 | トレハロース          | スクロース(対照) |
| ○     | -    | -    | ○               | 無               | 無         |
| -     | ○    | -    | ○               | 無               | 無         |
| -     | -    | ○    | ○               | 有               | 無         |
| ○     | ○    | -    | ○               | 無               | 無         |
| ○     | -    | ○    | ○               | 有               | 無         |
| -     | ○    | ○    | ○               | 有               | 有         |
| -     | -    | -    | ○               | 無               | 無         |
| -     | ○    | ○    | -               | 無               | 無         |

## 【0031】

表3に示すように、G蛋白質αサブユニット及びT1R3発現細胞において、トレハロースに対する反応性が検出された。一方、対照のスクロースは、G蛋白質αサブユニット、T1R2及びT1R3発現細胞において、反応性が検出された。この結果は、トレハロース受容体においては、T1R1及びT1R2は不要であり、G蛋白質αサブユニットとともにT1R3のみが必要であること、トレハロースとスクロースは異なる受容体により認識されていることが判明した。

## 【0032】

## 【実施例5】

## &lt;トレハロース受容体における他の甘味成分の検出&gt;

実施例4において、G蛋白質αサブユニットと甘味受容体T1R3のみを発現させた細胞における、各種甘味を有する物質に対する反応性を測定した。すなわ

ち、表4に示す各種甘味物質について、それぞれカルシウムイオンの流入の測定を、実施例4と同様にして行った。結果を表4に示す。

## 【0033】

【表4】

| 甘味料     | カルシウム<br>の流入 |
|---------|--------------|
| トレハロース  | 有            |
| スクロース   | 無            |
| マンノース   | 無            |
| ガラクトース  | 無            |
| フルクトース  | 無            |
| エリスリトール | 無            |
| マルチトール  | 無            |
| L-グリシン  | 無            |
| アラニン    | 無            |
| スクラロース  | 無            |
| アスパルテーム | 無            |

## 【0034】

表4に示すとおり、トレハロース受容体は、トレハロース以外の糖質には反応性がなく、トレハロースを特異的に認識することが判明した。したがって、各種甘味料が混在する状況下においても、トレハロースを特異的に検出することが可能である。

## 【0035】

## 【実施例6】

## &lt;トレハロース受容体におけるトレハロースの定量&gt;

市販の96穴マイクロプレートに、実施例4で調製した細胞懸濁液0.1mlずつを播種し、これに、実施例4のカルシウムイオン測定用緩衝液により各種濃度に希釈したトレハロース溶液、すなわち、1mM、2mM、5mM、10mM、20mM、50mM、100mM、200mM、500mM、1,000mM、又は2,000mMを0.1mlずつ添加し、濃度マルチプレート用自動蛍光

測定装置（大日本製薬（株）販売、商品名『フルオロスキャンアセントW／D F』）により、励起波長494 nm、蛍光波長516 nmで測定し、蛍光強度の積分値を算出した。なお、陰性対照はトレハロース無添加の試料を用いた。結果を表5に示す。

## 【0036】

【表5】

| トレハロース濃度(mM) | 蛍光強度(積分値) |
|--------------|-----------|
| 0            | 0         |
| 1            | 0.2       |
| 2            | 0.5       |
| 5            | 10        |
| 10           | 19        |
| 20           | 29        |
| 50           | 45        |
| 100          | 82        |
| 200          | 159       |
| 500          | 421       |
| 1000         | 670       |
| 2000         | 720       |

## 【0037】

表5に示すように、トレハロース濃度5 mM以上から、トレハロースの検出が可能となり、500 mMまでは直線性を有していた。したがって、この結果は、トレハロース濃度5 mM乃至500 mMの範囲内で定量的にトレハロース濃度が測定できることを示している。

## 【0038】

## 【発明の効果】

本発明は、哺乳動物における受容体の新規な組み合わせによるトレハロース受容体によって、トレハロースの検出や定量を、簡便に実施できる。また、トレハロースに特異的な受容体を利用しているので、他の糖質、例えばスクロースが混入している試料であっても測定可能である。

【0039】

【配列表】

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; Kabushiki Kaisha Hayashibara Seibutsu Kagaku Kenkyujo

&lt;120&gt; Trehalose receptor and method of detecting trehalose

&lt;130&gt; 100972

&lt;160&gt; 24

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 374

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Human

&lt;300&gt;

&lt;308&gt; GENBANK M80632

&lt;400&gt; 1

Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Gly Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu

1

5

10

15

Glu Glu Lys Thr Ala Ala Arg Ile Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu

20

25

30

Leu Glu Gln Lys Lys Gln Glu Arg Glu Glu Leu Lys Leu Leu Leu

35

40

45

Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile

50

55

60

Ile His Gly Val Gly Tyr Ser Glu Glu Asp Arg Arg Ala Phe Arg Leu

65

70

75

80

Leu Ile Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Gln Ala Met Ile Asp Ala

85

90

95

Met Asp Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Asp Ser Lys Gln His  
 100 105 110  
 Ala Ser Leu Val Met Thr Gln Asp Pro Tyr Lys Val Ser Thr Phe Glu  
 115 120 125  
 Lys Pro Tyr Ala Val Ala Met Gln Tyr Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile  
 130 135 140  
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala  
 145 150 155 160  
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Ser Glu Asp Ser Tyr Ile  
 165 170 175  
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile  
 180 185 190  
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Lys Lys Thr Lys Leu Arg Ile Val Asp  
 195 200 205  
 Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu Arg Arg Lys Trp Ile His Cys Phe Glu  
 210 215 220  
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln  
 225 230 235 240  
 Cys Leu Glu Glu Asn Asp Gln Glu Asn Arg Met Glu Glu Ser Leu Ala  
 245 250 255  
 Leu Phe Ser Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val  
 260 265 270  
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Asp Lys Ile His Thr  
 275 280 285  
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Arg Arg Asp  
 290 295 300  
 Ala Glu Ala Ala Lys Ser Phe Ile Leu Asp Met Tyr Ala Arg Val Tyr  
 305 310 315 320  
 Ala Ser Cys Ala Glu Pro Gln Asp Gly Gly Arg Lys Gly Ser Arg Ala

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 325   | 330 | 335 |
| Arg Arg Phe Phe Ala His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Ser Val |     |     |
| 340   | 345 | 350 |
| Arg Ser Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu |     |     |
| 355   | 360 | 365 |
| Asp Glu Ile Asn Leu Leu   |     |     |
| 370   |     |     |

<210> 2

<211> 374

<212> PRT

<213> Human

<300>

<308> GENBANK M63904

<400> 2

|   |   |    |    |
|---|---|----|----|
| Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu |   |    |    |
| 1   | 5 | 10 | 15 |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu |    |    |  |
| 20  | 25 | 30 |  |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu |    |    |  |
| 35  | 40 | 45 |  |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile |    |    |  |
| 50  | 55 | 60 |  |

|   |    |    |    |
|---|----|----|----|
| Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro |    |    |    |
| 65  | 70 | 75 | 80 |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala |    |    |  |
| 85  | 90 | 95 |  |

Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His  
 100 105 110  
 Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu  
 115 120 125  
 Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile  
 130 135 140  
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala  
 145 150 155 160  
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val  
 165 170 175  
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile  
 180 185 190  
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp  
 195 200 205  
 Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu  
 210 215 220  
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln  
 225 230 235 240  
 Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala  
 245 250 255  
 Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val  
 260 265 270  
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr  
 275 280 285  
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp  
 290 295 300  
 Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr  
 305 310 315 320  
 Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Lys Lys Gly Ala Arg Ser

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 325   | 330 | 335 |
| Arg Arg Leu Phe Ser His Tyr Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Asn Ile |     |     |
| 340   | 345 | 350 |
| Arg Lys Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu |     |     |
| 355   | 360 | 365 |
| Asp Glu Ile Asn Leu Leu   |     |     |
| 370   |     |     |

<210> 3

<211> 355

<212> PRT

<213> Human

<300>

<308> GENBANK NM\_002073

<400> 3

|   |   |    |    |
|---|---|----|----|
| Met Gly Cys Arg Gln Ser Ser Glu Glu Lys Glu Ala Ala Arg Arg Ser |   |    |    |
| 1   | 5 | 10 | 15 |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Arg Arg Ile Asp Arg His Leu Arg Ser Glu Ser Gln Arg Gln Arg Arg |    |    |  |
| 20  | 25 | 30 |  |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Glu Ile Lys Leu Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Gly Lys Ser Thr |    |    |  |
| 35  | 40 | 45 |  |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Ser Gly Gly Phe Asn Leu Glu |    |    |  |
| 50  | 55 | 60 |  |

|   |    |    |    |
|---|----|----|----|
| Ala Cys Lys Glu Tyr Lys Pro Leu Ile Ile Tyr Asn Ala Ile Asp Ser |    |    |    |
| 65  | 70 | 75 | 80 |

|   |    |    |  |
|---|----|----|--|
| Leu Thr Arg Ile Ile Arg Ala Leu Ala Ala Leu Arg Ile Asp Phe His |    |    |  |
| 85  | 90 | 95 |  |

Asn Pro Asp Arg Ala Tyr Asp Ala Val Gln Leu Phe Ala Leu Thr Gly  
 100 105 110  
 Pro Ala Glu Ser Lys Gly Glu Ile Thr Pro Glu Leu Leu Gly Val Met  
 115 120 125  
 Arg Arg Leu Trp Ala Asp Pro Gly Ala Gln Ala Cys Phe Ser Arg Ser  
 130 135 140  
 Ser Glu Tyr His Leu Glu Asp Asn Ala Ala Tyr Tyr Leu Asn Asp Leu  
 145 150 155 160  
 Glu Arg Ile Ala Ala Ala Asp Tyr Ile Pro Thr Val Glu Asp Ile Leu  
 165 170 175  
 Arg Ser Arg Asp Met Thr Thr Gly Ile Val Glu Asn Lys Phe Thr Phe  
 180 185 190  
 Lys Glu Leu Thr Phe Lys Met Val Asp Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu  
 195 200 205  
 Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Gly Val Thr Ala Ile Ile Phe  
 210 215 220  
 Cys Val Glu Leu Ser Gly Tyr Asp Leu Lys Leu Tyr Glu Asp Asn Gln  
 225 230 235 240  
 Thr Ser Arg Met Ala Glu Ser Leu Arg Leu Phe Asp Ser Ile Cys Asn  
 245 250 255  
 Asn Asn Trp Phe Ile Asn Thr Ser Leu Ile Leu Phe Leu Asn Lys Lys  
 260 265 270  
 Asp Leu Leu Ala Glu Lys Ile Arg Arg Ile Pro Leu Thr Ile Cys Phe  
 275 280 285  
 Pro Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Thr Tyr Glu Glu Ala Ala Val Tyr Ile  
 290 295 300  
 Gln Arg Gln Phe Glu Asp Leu Asn Arg Asn Lys Glu Thr Lys Glu Ile  
 305 310 315 320

Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile Gln Phe Val

325

330

335

Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu Lys Tyr Ile

340

345

350

Gly Leu Cys

355

<210> 4

<211> 374

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<300>

<301>SEJAL M. MODY, MAURICE K. C. HO, SUSHMA A. JOSHI, and YUNG H. WONG

<302>Incorporation of Galphaz-Specific Sequence at the Carboxyl Terminus  
Increases the Promiscuity of Galphai6 toward Gi-Coupled Receptors

<303>The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics

<304>57

<306>13-23

<307>2000

<400> 4

Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu

1

5

10

15

Asp Glu Lys Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu

20

25

30

Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu

35

40

45

Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 50  | 55  | 60  |
| Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro |     |     |
| 65  | 70  | 75  |
| Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala |     |     |
| 85  | 90  | 95  |
| Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His |     |     |
| 100   | 105 | 110 |
| Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu |     |     |
| 115   | 120 | 125 |
| Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile |     |     |
| 130   | 135 | 140 |
| Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala     |     |     |
| 145   | 150 | 155 |
| Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val |     |     |
| 165   | 170 | 175 |
| Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile |     |     |
| 180   | 185 | 190 |
| Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp |     |     |
| 195   | 200 | 205 |
| Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu |     |     |
| 210   | 215 | 220 |
| Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln |     |     |
| 225   | 230 | 235 |
| Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala |     |     |
| 245   | 250 | 255 |
| Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val |     |     |
| 260   | 265 | 270 |
| Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr |     |     |

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 275   | 280 | 285 |
| Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp |     |     |
| 290   | 295 | 300 |
| Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr |     |     |
| 305   | 310 | 315 |
| Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Asn Arg Asn Lys Glu Thr |     |     |
| 325   | 330 | 335 |
| Lys Glu Ile Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile |     |     |
| 340   | 345 | 350 |
| Gln Phe Val Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu |     |     |
| 355   | 360 | 365 |
| Lys Tyr Ile Gly Leu Cys   |     |     |
| 370   |     |     |

<210> 5

<211> 858

<212> PRT

<213> Mouse

<300>

<308> GENBANK AY032622

<400> 5

|   |    |    |    |
|---|----|----|----|
| Met Pro Ala Leu Ala Ile Met Gly Leu Ser Leu Ala Ala Phe Leu Glu |    |    |    |
| 1   | 5  | 10 | 15 |
| Leu Gly Met Gly Ala Ser Leu Cys Leu Ser Gln Gln Phe Lys Ala Gln |    |    |    |
| 20  | 25 | 30 |    |
| Gly Asp Tyr Ile Leu Gly Leu Phe Pro Leu Gly Ser Thr Glu Glu     |    |    |    |
| 35  | 40 | 45 |    |

Ala Thr Leu Asn Gln Arg Thr Gln Pro Asn Ser Ile Pro Cys Asn Arg  
 50 55 60  
 Phe Ser Pro Leu Gly Leu Phe Leu Ala Met Ala Met Lys Met Ala Val  
 65 70 75 80  
 Glu Glu Ile Asn Asn Gly Ser Ala Leu Leu Pro Gly Leu Arg Leu Gly  
 85 90 95  
 Tyr Asp Leu Phe Asp Thr Cys Ser Glu Pro Val Val Thr Met Lys Ser  
 100 105 110  
 Ser Leu Met Phe Leu Ala Lys Val Gly Ser Gln Ser Ile Ala Ala Tyr  
 115 120 125  
 Cys Asn Tyr Thr Gln Tyr Gln Pro Arg Val Leu Ala Val Ile Gly Pro  
 130 135 140  
 His Ser Ser Glu Leu Ala Leu Ile Thr Gly Lys Phe Phe Ser Phe Phe  
 145 150 155 160  
 Leu Met Pro Gln Val Ser Tyr Ser Ala Ser Met Asp Arg Leu Ser Asp  
 165 170 175  
 Arg Glu Thr Phe Pro Ser Phe Phe Arg Thr Val Pro Ser Asp Arg Val  
 180 185 190  
 Gln Leu Gln Ala Val Val Thr Leu Leu Gln Asn Phe Ser Trp Asn Trp  
 195 200 205  
 Val Ala Ala Leu Gly Ser Asp Asp Tyr Gly Arg Glu Gly Leu Ser  
 210 215 220  
 Ile Phe Ser Ser Leu Ala Asn Ala Arg Gly Ile Cys Ile Ala His Glu  
 225 230 235 240  
 Gly Leu Val Pro Gln His Asp Thr Ser Gly Gln Gln Leu Gly Lys Val  
 245 250 255  
 Leu Asp Val Leu Arg Gln Val Asn Gln Ser Lys Val Gln Val Val Val  
 260 265 270  
 Leu Phe Ala Ser Ala Arg Ala Val Tyr Ser Leu Phe Ser Tyr Ser Ile

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 275   | 280 | 285 |
| His His Gly Leu Ser Pro Lys Val Trp Val Ala Ser Glu Ser Trp Leu |     |     |
| 290   | 295 | 300 |
| Thr Ser Asp Leu Val Met Thr Leu Pro Asn Ile Ala Arg Val Gly Thr |     |     |
| 305   | 310 | 315 |
| Val Leu Gly Phe Leu Gln Arg Gly Ala Leu Leu Pro Glu Phe Ser His |     |     |
| 325   | 330 | 335 |
| Tyr Val Glu Thr His Leu Ala Leu Ala Asp Pro Ala Phe Cys Ala     |     |     |
| 340   | 345 | 350 |
| Ser Leu Asn Ala Glu Leu Asp Leu Glu Glu His Val Met Gly Gln Arg |     |     |
| 355   | 360 | 365 |
| Cys Pro Arg Cys Asp Asp Ile Met Leu Gln Asn Leu Ser Ser Gly Leu |     |     |
| 370   | 375 | 380 |
| Leu Gln Asn Leu Ser Ala Gly Gln Leu His His Gln Ile Phe Ala Thr |     |     |
| 385   | 390 | 395 |
| Tyr Ala Ala Val Tyr Ser Val Ala Gln Ala Leu His Asn Thr Leu Gln |     |     |
| 405   | 410 | 415 |
| Cys Asn Val Ser His Cys His Val Ser Glu His Val Leu Pro Trp Gln |     |     |
| 420   | 425 | 430 |
| Leu Leu Glu Asn Met Tyr Asn Met Ser Phe His Ala Arg Asp Leu Thr |     |     |
| 435   | 440 | 445 |
| Leu Gln Phe Asp Ala Glu Gly Asn Val Asp Met Glu Tyr Asp Leu Lys |     |     |
| 450   | 455 | 460 |
| Met Trp Val Trp Gln Ser Pro Thr Pro Val Leu His Thr Val Gly Thr |     |     |
| 465   | 470 | 475 |
| Phe Asn Gly Thr Leu Gln Leu Gln Ser Lys Met Tyr Trp Pro Gly     |     |     |
| 485   | 490 | 495 |
| Asn Gln Val Pro Val Ser Gln Cys Ser Arg Gln Cys Lys Asp Gly Gln |     |     |
| 500   | 505 | 510 |

Val Arg Arg Val Lys Gly Phe His Ser Cys Cys Tyr Asp Cys Val Asp  
 515 520 525  
 Cys Lys Ala Gly Ser Tyr Arg Lys His Pro Asp Asp Phe Thr Cys Thr  
 530 535 540  
 Pro Cys Asn Gln Asp Gln Trp Ser Pro Glu Lys Ser Thr Ala Cys Leu  
 545 550 555 560  
 Pro Arg Arg Pro Lys Phe Leu Ala Trp Gly Glu Pro Val Val Leu Ser  
 565 570 575  
 Leu Leu Leu Leu Cys Leu Val Leu Gly Leu Ala Leu Ala Ala Leu  
 580 585 590  
 Gly Leu Ser Val His His Trp Asp Ser Pro Leu Val Gln Ala Ser Gly  
 595 600 605  
 Gly Ser Gln Phe Cys Phe Gly Leu Ile Cys Leu Gly Leu Phe Cys Leu  
 610 615 620  
 Ser Val Leu Leu Phe Pro Gly Arg Pro Ser Ser Ala Ser Cys Leu Ala  
 625 630 635 640  
 Gln Gln Pro Met Ala His Leu Pro Leu Thr Gly Cys Leu Ser Thr Leu  
 645 650 655  
 Phe Leu Gln Ala Ala Glu Thr Phe Val Glu Ser Glu Leu Pro Leu Ser  
 660 665 670  
 Trp Ala Asn Trp Leu Cys Ser Tyr Leu Arg Gly Leu Trp Ala Trp Leu  
 675 680 685  
 Val Val Leu Leu Ala Thr Phe Val Glu Ala Ala Leu Cys Ala Trp Tyr  
 690 695 700  
 Leu Asn Ala Phe Pro Pro Glu Val Val Thr Asp Trp Ser Val Leu Pro  
 705 710 715 720  
 Thr Glu Val Leu Glu His Cys His Val Arg Ser Trp Val Ser Leu Gly  
 725 730 735  
 Leu Val His Ile Thr Asn Ala Met Leu Ala Phe Leu Cys Phe Leu Gly

|   |     |     |
|---|-----|-----|
| 740   | 745 | 750 |
| Thr Phe Leu Val Gln Ser Gln Pro Gly Arg Tyr Asn Arg Ala Arg Gly |     |     |
| 755   | 760 | 765 |
| Leu Thr Phe Ala Met Leu Ala Tyr Phe Ile Thr Trp Val Ser Phe Val |     |     |
| 770   | 775 | 780 |
| Pro Leu Leu Ala Asn Val Gln Val Ala Tyr Gln Pro Ala Val Gln Met |     |     |
| 785   | 790 | 795 |
| Gly Ala Ile Leu Val Cys Ala Leu Gly Ile Leu Val Thr Phe His Leu |     |     |
| 805   | 810 | 815 |
| Pro Lys Cys Tyr Val Leu Leu Trp Leu Pro Lys Leu Asn Thr Gln Glu |     |     |
| 820   | 825 | 830 |
| Phe Phe Leu Gly Arg Asn Ala Lys Lys Ala Ala Asp Glu Asn Ser Gly |     |     |
| 835   | 840 | 845 |
| Gly Gly Glu Ala Ala Gln Gly His Asn Glu                         |     |     |
| 850   | 855 |     |

<210> 6

<211> 1353

<212> DNA

<213> Mouse

<300>

<308> GENBANK M80632

<400> 6

|   |    |
|---|----|
| caggccctgt gatgtcacct ggtggctgt gaagcgccca cc | 42 |
|---|----|

|   |    |
|---|----|
| atg gcc cgg tcc ctg act tgg ggc tgc tgt ccc tgg tgc ctg aca gag | 90 |
|---|----|

Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Gly Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu

|   |     |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|-----|
| 1   | 5   | 10  | 15  |     |
| gag gag aag act gcc gcc aga atc gac cag gag atc aac agg att ttg |     |     |     | 138 |
| Glu Glu Lys Thr Ala Ala Arg Ile Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu |     |     |     |     |
| 20  | 25  | 30  |     |     |
| ttg gaa cag aaa aaa caa gag cgc gag gaa ttg aaa ctc ctg ctg ttg |     |     |     | 186 |
| Leu Glu Gln Lys Lys Gln Glu Arg Glu Glu Leu Lys Leu Leu Leu     |     |     |     |     |
| 35  | 40  | 45  |     |     |
| ggg cct ggt gag agc ggg aag agt acg ttc atc aag cag atg cgc atc |     |     |     | 234 |
| Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile |     |     |     |     |
| 50  | 55  | 60  |     |     |
| att cac ggt gtg ggc tac tcg gag gag gac cgc aga gcc ttc cgg ctg |     |     |     | 282 |
| Ile His Gly Val Gly Tyr Ser Glu Glu Asp Arg Arg Ala Phe Arg Leu |     |     |     |     |
| 65  | 70  | 75  | 80  |     |
| ctc atc tac cag aac atc ttc gtc tcc atg cag gcc atg ata gat gcg |     |     |     | 330 |
| Leu Ile Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Gln Ala Met Ile Asp Ala |     |     |     |     |
| 85  | 90  | 95  |     |     |
| atg gac cgg ctg cag atc ccc ttc agc agg cct gac agc aag cag cac |     |     |     | 378 |
| Met Asp Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Asp Ser Lys Gln His |     |     |     |     |
| 100   | 105 | 110 |     |     |
| gcc agc cta gtg atg acc cag gac ccc tat aaa gtg agc aca ttc gag |     |     |     | 426 |
| Ala Ser Leu Val Met Thr Gln Asp Pro Tyr Lys Val Ser Thr Phe Glu |     |     |     |     |
| 115   | 120 | 125 |     |     |
| aag cca tat gca gtg gcc atg cag tac ctg tgg cgg gac gcg ggc atc |     |     |     | 474 |
| Lys Pro Tyr Ala Val Ala Met Gln Tyr Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile |     |     |     |     |
| 130   | 135 | 140 |     |     |
| cgt gca tgc tac gag cga agg cgt gaa ttc cac ctt ctg gac tcc gcg |     |     |     | 522 |
| Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala     |     |     |     |     |
| 145   | 150 | 155 | 160 |     |
| gtg tat tac ctg tca cac ctg gag cgc ata tca gag gac agc tac atc |     |     |     | 570 |

Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Ser Glu Asp Ser Tyr Ile  
 165 170 175  
 ccc act gcg caa gac gtg ctg cgc agt cgc atg ccc acc aca ggc atc 618  
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile  
 180 185 190  
 aat gag tac tgc ttc tcc gtg aag aaa acc aaa ctg cgc atc gtg gat 666  
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Lys Lys Thr Lys Leu Arg Ile Val Asp  
 195 200 205  
 gtt ggt ggc cag agg tca gag cgt agg aaa tgg att cac tgt ttc gag 714  
 Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu Arg Arg Lys Trp Ile His Cys Phe Glu  
 210 215 220  
 aac gtg att gcc ctc atc tac ctg gcc tcc ctg agc gag tat gac cag 762  
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln  
 225 230 235 240  
 tgc cta gag gag aac gat cag gag aac cgc atg gag gag agt ctc gct 810  
 Cys Leu Glu Glu Asn Asp Gln Glu Asn Arg Met Glu Glu Ser Leu Ala  
 245 250 255  
 ctg ttc agc acg atc cta gag ctg ccc tgg ttc aag agc acc tcg gtc 858  
 Leu Phe Ser Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val  
 260 265 270  
 atc ctc ttc ctc aac aag acg gac atc ctg gaa gat aag att cac acc 906  
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Asp Lys Ile His Thr  
 275 280 285  
 tcc cac ctg gcc aca tac ttc ccc agc ttc cag gga ccc cgg cga gac 954  
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Arg Arg Asp  
 290 295 300  
 gca gag gcc gcc aag agc ttc atc ttg gac atg tat gcg cgc gtg tac 1002  
 Ala Glu Ala Ala Lys Ser Phe Ile Leu Asp Met Tyr Ala Arg Val Tyr  
 305 310 315 320

gct agc tgc gca gag ccc cag gac ggt ggc agg aaa ggc tcc cgc gct 1050

Ala Ser Cys Ala Glu Pro Gln Asp Gly Gly Arg Lys Gly Ser Arg Ala

325

330

335

cgc cgc ttc ttc gca cac ttc acc tgt gcc acg gac acg caa agc gtc 1098

Arg Arg Phe Phe Ala His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Ser Val

340

345

350

cgc agc gtg ttc aag gac gtg cgg gac tcg gtg ctg gcc cgg tac ctg 1146

Arg Ser Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu

355

360

365

gac gag atc aac ctg ctg 1164

Asp Glu Ile Asn Leu Leu

370

tgacgcggga caggaaaccc caagcgac gctcggtggc gaggacatac ctccccctgg 1224

tggccgcgcg tggaactgca ggtccaggag ctgccaagtg gggaaaggccag cccacaggag 1284

agagtccctgc ttctactggg ccccaagcca gctccgtaa ttattcctcg ccttctctag 1344

tgttgaaag

<210> 7

<211> 31

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 7

cgcaagcttt ctctgtgaag cgcccaccat g

<210> 8

<211> 37

<212> DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;400&gt; 8

gcattacgat gcggccgcgc gtcacagcag gttgatc

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 2060

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Human

&lt;300&gt;

&lt;308&gt; GENBANK M63904

&lt;400&gt;

|            |             |            |            |            |            |     |
|------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| tgtccccagc | actcaaggct  | tgccaccgcc | gagccgggct | tcctgggtgt | ttcaggcaag | 60  |
| gaagtctagg | tccctggggg  | gtgaccccca | aggaaaaggc | agcctccctg | cgcacccgg  | 120 |
| tgcccgagc  | cctctccagg  | gccggctggg | ctgggggttg | ccctggccag | caggggcccc | 180 |
| ggggcgatgc | cacccggatgc | cgactgaggc | caccgcacc  |            |            | 219 |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| atg | gcc | cgc | tcg | ctg | acc | tgg | cgc | tgc | tgc | ccc | tgg | tgc | ctg | acg | gag | 267 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Ala | Arg | Ser | Leu | Thr | Trp | Arg | Cys | Cys | Pro | Trp | Cys | Leu | Thr | Glu |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|   |   |    |    |
|---|---|----|----|
| 1 | 5 | 10 | 15 |
|---|---|----|----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| gat | gag | aag | gcc | gcc | gcc | cgg | gtg | gac | cag | gag | atc | aac | agg | atc | ctc | 315 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Glu | Lys | Ala | Ala | Ala | Arg | Val | Asp | Gln | Glu | Ile | Asn | Arg | Ile | Leu |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|    |    |    |
|----|----|----|
| 20 | 25 | 30 |
|----|----|----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ttg | gag | cag | aag | aag | cag | gac | cgc | ggg | gag | ctg | aag | ctg | ctg | ctt | ttg | 363 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Glu | Gln | Lys | Lys | Gln | Asp | Arg | Gly | Glu | Leu | Lys | Leu | Leu | Leu |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|    |    |    |
|----|----|----|
| 35 | 40 | 45 |
|----|----|----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| ggc | cca | ggc | gag | agc | ggg | aag | agc | acc | ttc | atc | aag | cag | atg | cgg | atc | 411 |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gly | Pro | Gly | Glu | Ser | Gly | Lys | Ser | Thr | Phe | Ile | Lys | Gln | Met | Arg | Ile |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 50  | 55  | 60  |     |
| atc cac ggc gcc ggc tac tcg gag gag gag cgc aag ggc ttc cgg ccc |     |     | 459 |
| Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro |     |     |     |
| 65  | 70  | 75  | 80  |
| ctg gtc tac cag aac atc ttc gtg tcc atg cgg gcc atg atc gag gcc |     |     | 507 |
| Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala |     |     |     |
| 85  | 90  | 95  |     |
| atg gag cgg ctg cag att cca ttc agc agg ccc gag agc aag cac cac |     |     | 555 |
| Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His |     |     |     |
| 100   | 105 | 110 |     |
| gct agc ctg gtc atg agc cag gac ccc tat aaa gtg acc acg ttt gag |     |     | 603 |
| Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu |     |     |     |
| 115   | 120 | 125 |     |
| aag cgc tac gct gcg gcc atg cag tgg ctg tgg agg gat gcc ggc atc |     |     | 651 |
| Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile |     |     |     |
| 130   | 135 | 140 |     |
| cgg gcc tgc tat gag cgt cgg cgg gaa ttc cac ctg ctc gat tca gcc |     |     | 669 |
| Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala     |     |     |     |
| 145   | 150 | 155 | 160 |
| gtg tac tac ctg tcc cac ctg gag cgc atc acc gag gag ggc tac gtc |     |     | 747 |
| Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val |     |     |     |
| 165   | 170 | 175 |     |
| ccc aca gct cag gac gtg ctc cgc agc cgc atg ccc acc act ggc atc |     |     | 795 |
| Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile |     |     |     |
| 180   | 185 | 190 |     |
| aac gag tac tgc ttc tcc gtg cag aaa acc aac ctg cgg atc gtg gac |     |     | 843 |
| Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp |     |     |     |
| 195   | 200 | 205 |     |
| gtc ggg ggc cag aag tca gag cgt aag aaa tgg atc cat tgt ttc gag |     |     | 891 |

Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu  
 210 215 220  
 aac gtg atc gcc ctc atc tac ctg gcc tca ctg agt gaa tac gac cag 939  
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln  
 225 230 235 240  
 tgc ctg gag gag aac aac cag gag aac cgc atg aag gag agc ctc gca 987  
 Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala  
 245 250 255  
 ttg ttt ggg act atc ctg gaa cta ccc tgg ttc aaa agc aca tcc gtc 1035  
 Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val  
 260 265 270  
 atc ctc ttt ctc aac aaa acc gac atc ctg gag gag aaa atc ccc acc 1083  
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr  
 275 280 285  
 tcc cac ctg gct acc tat ttc ccc agt ttc cag ggc cct aag cag gat 1131  
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp  
 290 295 300  
 gct gag gca gcc aag agg ttc atc ctg gac atg tac acg agg atg tac 1179  
 Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr  
 305 310 315 320  
 acc ggg tgc gtg gac ggc ccc gag ggc agc aag aag ggc gca cga tcc 1227  
 Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Lys Lys Gly Ala Arg Ser  
 325 330 335  
 cga cgc ctt ttc agc cac tac aca tgt gcc aca gac aca cag aac atc 1275  
 Arg Arg Leu Phe Ser His Tyr Thr Cys Ala Thr Asp Thr Gln Asn Ile  
 340 345 350  
 cgc aag gtc ttc aag gac gtg cgg gac tcg gtg ctc gcc cgc tac ctg 1323  
 Arg Lys Val Phe Lys Asp Val Arg Asp Ser Val Leu Ala Arg Tyr Leu  
 355 360 365

gac gag atc aac ctg ctg 1341

Asp Glu Ile Asn Leu Leu

370

tgacccaggc cccacacctggg gcaggcggca ccggcggcg ggtgggaggt gggagtggct 1401

gcagggaccc tagtgtcctg gtctatctct ccagcctcgg cccacacgca agggagtcgg 1461

gggacggccc gctgctggcc gctctttct ctgcctctca ccaggacacgc cgccccccag 1521

ggtaactcctg cccttgcttg actcagttc ctcctttga aagggaagga gcaaaacggc 1581

catttggat gccagggtgg atgaaaaggt gaagaaatca ggggatttag acttgggtgg 1641

gtgggcatct ctcaggagcc ccatctccgg gcgtgtcacc tcctggcag gttctggga 1701

ccctctgtgg gtgacgcaca ccctggatg gggctagtag agccttcagg cgccctcggg 1761

cgtggactct ggccgactct agtggacagg agaaggaacg cttccagga acctgtggac 1821

taggggtgca gggacttccc ttgcaaggg gtaacagacc gctggaaaac actgtcactt 1881

ttagagctcg gtggctcaca gcgtgtcctg ccccggtttg cggacgagag aaatgcggc 1941

ccacaagcat cccccatccc ttgcaggctg gggctggc atgctgcata ttaaccttt 2001

gtatttattc ctcacacctc tgcaggcctc cgtgcggct gaaattaaag atttcttag 2060

<210> 10

<211> 2679

<212> DNA

<213> Human

<300>

<308> GENBANK NM\_002073

<400> 10

gagaccagga cc 12

atg gga tgt cgg caa agc tca gag gaa aaa gaa gca gcc cgg cgg tcc 60

Met Gly Cys Arg Gln Ser Ser Glu Glu Lys Glu Ala Ala Arg Arg Ser

1

5

10

15

cgga gaa att gac cgc cac ctg cgc tca gag agc cag cgg caa cgc cgc 108  
 Arg Arg Ile Asp Arg His Leu Arg Ser Glu Ser Gln Arg Gln Arg Arg  
 20 25 30  
 gaa atc aag ctg ctc ctg ctg ggc acc agc aac tca ggc aag agc acc 156  
 Glu Ile Lys Leu Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Gly Lys Ser Thr  
 35 40 45  
 atc gtc aaa cag atg aag atc atc cac agc ggc ggc ttc aac ctg gag 204  
 Ile Val Lys Gln Met Lys Ile Ile His Ser Gly Gly Phe Asn Leu Glu  
 50 55 60  
 gcc tgc aag gag tac aag ccc ctc atc atc tac aat gcc atc gac tcg 252  
 Ala Cys Lys Glu Tyr Lys Pro Leu Ile Ile Tyr Asn Ala Ile Asp Ser  
 65 70 75 80  
 ctg acc cgc atc atc cgg gcc ctg gcc gcc ctc agg atc gac ttc cac 300  
 Leu Thr Arg Ile Ile Arg Ala Leu Ala Leu Arg Ile Asp Phe His  
 85 90 95  
 aac ccc gac cgc gcc tac gac gct gtg cag ctc ttt gcg ctg acg ggc 348  
 Asn Pro Asp Arg Ala Tyr Asp Ala Val Gln Leu Phe Ala Leu Thr Gly  
 100 105 110  
 ccc gct gag agc aag ggc gag atc aca ccc gag ctg ctg ggt gtc atg 396  
 Pro Ala Glu Ser Lys Gly Glu Ile Thr Pro Glu Leu Leu Gly Val Met  
 115 120 125  
 cga cgg ctc tgg gcc gac cca ggg gca cag gcc tgc ttc agc cgc tcc 444  
 Arg Arg Leu Trp Ala Asp Pro Gly Ala Gln Ala Cys Phe Ser Arg Ser  
 130 135 140  
 agc gag tac cac ctg gag gac aac gcg gcc tac tac ctg aac gac ctg 492  
 Ser Glu Tyr His Leu Glu Asp Asn Ala Ala Tyr Tyr Leu Asn Asp Leu  
 145 150 155 160  
 gag cgc atc gcc gca gct gac tat atc ccc act gtc gag gac atc ctg 540  
 Glu Arg Ile Ala Ala Ala Asp Tyr Ile Pro Thr Val Glu Asp Ile Leu

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 165   | 170 | 175 |      |
| cgc tcc cgg gac atg acc acg ggc att gtg gag aac aag ttc acc ttc |     |     | 588  |
| Arg Ser Arg Asp Met Thr Thr Gly Ile Val Glu Asn Lys Phe Thr Phe |     |     |      |
| 180   | 185 | 190 |      |
| aag gag ctc acc ttc aag atg gtg gac gtg ggg ggg cag agg tca gag |     |     | 636  |
| Lys Glu Leu Thr Phe Lys Met Val Asp Val Gly Gly Gln Arg Ser Glu |     |     |      |
| 195   | 200 | 205 |      |
| cgc aaa aag tgg atc cac tgc ttc gag ggc gtc aca gcc atc atc ttc |     |     | 684  |
| Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu Gly Val Thr Ala Ile Ile Phe |     |     |      |
| 210   | 215 | 220 |      |
| tgt gtg gag ctc agc ggc tac gac ctg aaa ctc tac gag gat aac cag |     |     | 732  |
| Cys Val Glu Leu Ser Gly Tyr Asp Leu Lys Leu Tyr Glu Asp Asn Gln |     |     |      |
| 225   | 230 | 235 | 240  |
| aca agt cgg atg gca gag agc ttg cgc ctc ttt gac tcc atc tgc aac |     |     | 780  |
| Thr Ser Arg Met Ala Glu Ser Leu Arg Leu Phe Asp Ser Ile Cys Asn |     |     |      |
| 245   | 250 | 255 |      |
| aac aac tgg ttc atc aac acc tca ctc atc ctc ttc ctg aac aag aag |     |     | 828  |
| Asn Asn Trp Phe Ile Asn Thr Ser Leu Ile Leu Phe Leu Asn Lys Lys |     |     |      |
| 260   | 265 | 270 |      |
| gac ctg ctg gca gag aag atc cgc cgc atc ccg ctc acc atc tgc ttt |     |     | 876  |
| Asp Leu Leu Ala Glu Lys Ile Arg Arg Ile Pro Leu Thr Ile Cys Phe |     |     |      |
| 275   | 280 | 285 |      |
| ccc gag tac aag ggc cag aac acg tac gag gag gcc gct gtc tac atc |     |     | 924  |
| Pro Glu Tyr Lys Gly Gln Asn Thr Tyr Glu Glu Ala Ala Val Tyr Ile |     |     |      |
| 290   | 295 | 300 |      |
| cag cgg cag ttt gaa gac ctg aac cgc aac aag gag acc aac gag atc |     |     | 972  |
| Gln Arg Gln Phe Glu Asp Leu Asn Arg Asn Lys Glu Thr Lys Glu Ile |     |     |      |
| 305   | 310 | 315 | 320  |
| tac tcc cac ttc acc tgc gcc acc gac acc agt aac atc cag ttt gtc |     |     | 1020 |

Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile Gln Phe Val

325

330

335

ttc gac gcg gtg aca gac gtc atc ata cag aac aat ctc aag tac att 1068

Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu Lys Tyr Ile

340

345

350

ggc ctt tgc 1077

Gly Leu Cys

355

tgaggagctg ggccggggc gcctgcctat ggtgaaaccc acgggggtgtc atgccccaac 1137  
 gcgtgctaga gaggccaat ccagggcag aaaacagggg gcctaaagaa tgtcccccac 1197  
 cccttggcct ctgcctcctt gccccacat ttctgcaaac ataaatattt acggatagat 1257  
 tgcttaggtat agacacac acacatgcac acacacacat ctggagatgg caaaatcctc 1317  
 taaaatgtcg aggtctcttg aagacttgag aagctgtcac aaggtcacta caagcccaac 1377  
 ctgccccttc actttgcctt cctgagttgg ccccaactcca ctgggggtc tgcattggat 1437  
 tgttagggat aggcaagcagg gctgaggccaa ggtaggccaa ctgcacccct gtcacctgga 1497  
 ggagggccgg ctcgctgccc gagctctggc ctagggacct tgccgctgac caagagggag 1557  
 gaccagtgca gggctgtgc accttccctg ctggcctgca cacagctgct cagcaccatt 1617  
 tcattctgga cctggacact taggagccgg gtgacagcac taaccagacc tccagccact 1677  
 cacagctctt tttaaaaaac agcttcaaaa tatgcagcaa aaaccaatac aacaaaacga 1737  
 gtggcacgat ttatttcaaa ctaggccagc tgggattcca gctttcttc tactagtctg 1797  
 atgtttata aatcaaacc tggtttcct tctctggcat tttttttgt ttttgggtt 1857  
 ttggttttt tttttttt ggccaaatct cgtgggtttt cgcaaaaaaa aatccagaaa 1917  
 attcaaattg cagttgagta ttctttta aatgcagatt ttcaaaacat atttttttc 1977  
 aggtggtctt tttgtgtct ggcttgctga gtgtaaaagt tgttatctgg acgatctgtc 2037  
 tctctgctcc aaagaaaattt tggagtgagt ggcagtcctg cgccagcctc gcgggacacg 2097  
 tgttgatcat aagcctctgc agtgcctct tgttaatggt ggggtttct gctttgggtt 2157  
 tatttaagaa aataaacacg acatattaa agaaggttct ttcacctggg agcaaatgaa 2217  
 caatagctaa gtgtcttgggt atttaagag taaattattt gtggcttgc tgagtgaagg 2277

aaggggagca aggggtggtg cccctggtcc cagcatgccc cgccgcctgag actggctgga 2337  
aatgctctga ctcctgtgaa ggcacagcca gcgttgcgc ctgagggagg ccctgctggg 2397  
accctgatct gggccttcct gtcccaggc ctatggcaa ctgcgtgaa aggacgttcg 2457  
ccaagggccg tgtgtaaata cgaactgcgc catggagagg agaggcactg ccggagccct 2517  
tgccagatct ccctccctct ctctgtgcag tagctgtgt tccgaggta gtgtgcggaa 2577  
tcacagccaa ggacgtgaag agatgtacgg gggaaagaga agctggggat tggatgaaag 2637  
tcaaaggttt tctactttaa gaaaataaaa taccctgaat gg

<210> 11

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 11

cgcaagcttg actgaggcca ccgcaccat

<210> 12

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 12

ctccttgggg cgggtgcgc cctcggggc

<210> 13

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

&lt;400&gt; 13

ggcccccgagg gcagcaaccg aaacaaggag

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 37

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;400&gt; 14

gcattacgat gcggccgcag ctcctcagca aaggcca

&lt;210&gt; 15

&lt;211&gt; 1122

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Artificial Sequence

&lt;300&gt;

&lt;301&gt;SEJAL M. MODY, MAURICE K. C. HO, SUSHMA A. JOSHI, and YUNG H. WONG

<302>Incorporation of Galphaz-Specific Sequence at the Carboxyl Terminus  
Increases the Promiscuity of Galphal6 toward Gi-Coupled Receptors

&lt;303&gt;The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics

&lt;304&gt;57

&lt;306&gt;13-23

&lt;307&gt;2000

&lt;400&gt; 15

atg gcc cgc tcg ctg acc tgg cgc tgc tgc ccc tgg tgc ctg acg gag 48

Met Ala Arg Ser Leu Thr Trp Arg Cys Cys Pro Trp Cys Leu Thr Glu

1

5

10

15

gat gag aag gcc gcc cgg gtg gac cag gag atc aac agg atc ctc 96

Asp Glu Lys Ala Ala Ala Arg Val Asp Gln Glu Ile Asn Arg Ile Leu  
 20 25 30  
 ttg gag cag aag aag cag gac cgc ggg gag ctg aag ctg ctg ctt ttg 144  
 Leu Glu Gln Lys Lys Gln Asp Arg Gly Glu Leu Lys Leu Leu Leu  
 35 40 45  
 ggc cca ggc gag agc ggg aag agc acc ttc atc aag cag atg cgg atc 192  
 Gly Pro Gly Glu Ser Gly Lys Ser Thr Phe Ile Lys Gln Met Arg Ile  
 50 55 60  
 atc cac ggc gcc ggc tac tcg gag gag gag cgc aag ggc ttc cgg ccc 240  
 Ile His Gly Ala Gly Tyr Ser Glu Glu Glu Arg Lys Gly Phe Arg Pro  
 65 70 75 80  
 ctg gtc tac cag aac atc ttc gtg tcc atg cgg gcc atg atc gag gcc 288  
 Leu Val Tyr Gln Asn Ile Phe Val Ser Met Arg Ala Met Ile Glu Ala  
 85 90 95  
 atg gag cgg ctg cag att cca ttc agc agg ccc gag agc aag cac cac 336  
 Met Glu Arg Leu Gln Ile Pro Phe Ser Arg Pro Glu Ser Lys His His  
 100 105 110  
 gct agc ctg gtc atg agc cag gac ccc tat aaa gtg acc acg ttt gag 384  
 Ala Ser Leu Val Met Ser Gln Asp Pro Tyr Lys Val Thr Thr Phe Glu  
 115 120 125  
 aag cgc tac gct gcg gcc atg cag tgg ctg tgg agg gat gcc ggc atc 432  
 Lys Arg Tyr Ala Ala Ala Met Gln Trp Leu Trp Arg Asp Ala Gly Ile  
 130 135 140  
 cgg gcc tgc tat gag cgt cgg cgg gaa ttc cac ctg ctc gat tca gcc 480  
 Arg Ala Cys Tyr Glu Arg Arg Glu Phe His Leu Leu Asp Ser Ala  
 145 150 155 160  
 gtg tac tac ctg tcc cac ctg gag cgc atc acc gag gag ggc tac gtc 528  
 Val Tyr Tyr Leu Ser His Leu Glu Arg Ile Thr Glu Glu Gly Tyr Val  
 165 170 175

ccc aca gct cag gac gtg ctc cgc agc cgc atg ccc acc act ggc atc 576  
 Pro Thr Ala Gln Asp Val Leu Arg Ser Arg Met Pro Thr Thr Gly Ile  
 180 185 190  
 aac gag tac tgc ttc tcc gtg cag aaa acc aac ctg cgg atc gtg gac 624  
 Asn Glu Tyr Cys Phe Ser Val Gln Lys Thr Asn Leu Arg Ile Val Asp  
 195 200 205  
 gtc ggg ggc cag aag tca gag cgt aag aaa tgg atc cat tgt ttc gag 672  
 Val Gly Gly Gln Lys Ser Glu Arg Lys Lys Trp Ile His Cys Phe Glu  
 210 215 220  
 aac gtg atc gcc ctc atc tac ctg gcc tca ctg agt gaa tac gac cag 720  
 Asn Val Ile Ala Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Leu Ser Glu Tyr Asp Gln  
 225 230 235 240  
 tgc ctg gag gag aac aac cag gag aac cgc atg aag gag agc ctc gca 768  
 Cys Leu Glu Glu Asn Asn Gln Glu Asn Arg Met Lys Glu Ser Leu Ala  
 245 250 255  
 ttg ttt ggg act atc ctg gaa cta ccc tgg ttc aaa agc aca tcc gtc 816  
 Leu Phe Gly Thr Ile Leu Glu Leu Pro Trp Phe Lys Ser Thr Ser Val  
 260 265 270  
 atc ctc ttt ctc aac aaa acc gac atc ctg gag gag aaa atc ccc acc 864  
 Ile Leu Phe Leu Asn Lys Thr Asp Ile Leu Glu Glu Lys Ile Pro Thr  
 275 280 285  
 tcc cac ctg gct acc tat ttc ccc agt ttc cag ggc cct aag cag gat 912  
 Ser His Leu Ala Thr Tyr Phe Pro Ser Phe Gln Gly Pro Lys Gln Asp  
 290 295 300  
 gct gag gca gcc aag agg ttc atc ctg gac atg tac acg agg atg tac 960  
 Ala Glu Ala Ala Lys Arg Phe Ile Leu Asp Met Tyr Thr Arg Met Tyr  
 305 310 315 320  
 acc ggg tgc gtg gac ggc ccc gag ggc agc aac cgc aac aag gag acc 1008  
 Thr Gly Cys Val Asp Gly Pro Glu Gly Ser Asn Arg Asn Lys Glu Thr

|  |     |     |
|--|-----|-----|
| 325  | 330 | 335 |
| aag gag atc tac tcc cac ttc acc tgc gcc acc gac acc agt aac atc 1056 |     |     |
| Lys Glu Ile Tyr Ser His Phe Thr Cys Ala Thr Asp Thr Ser Asn Ile      |     |     |
| 340  | 345 | 350 |
| cag ttt gtc ttc gac gcg gtg aca gac gtc atc ata cag aac aat ctc 1104 |     |     |
| Gln Phe Val Phe Asp Ala Val Thr Asp Val Ile Ile Gln Asn Asn Leu      |     |     |
| 355  | 360 | 365 |
| aag tac att ggc ctt tgc  |     |     |
| Lys Tyr Ile Gly Leu Cys  |     |     |
| 370  |     |     |

<210> 16

<211> 2529

<212> DNA

<213> Mouse

<300>

<308>GENBANK AY032622

<400> 16

|   |     |    |    |
|---|-----|----|----|
| atg ctt ttc tgg gca gct cac ctg ctg ctc agc ctg cag ctg gcc gtt | 48  |    |    |
| Met Leu Phe Trp Ala Ala His Leu Leu Leu Ser Leu Gln Leu Ala Val |     |    |    |
| 1   | 5   | 10 | 15 |
| gct tac tgc tgg gct ttc agc tgc caa agg aca gaa tcc tct cca ggt | 96  |    |    |
| Ala Tyr Cys Trp Ala Phe Ser Cys Gln Arg Thr Glu Ser Ser Pro Gly |     |    |    |
| 20  | 25  | 30 |    |
| ttc agc ctc cct ggg gac ttc ctc ctg gca ggc ctg ttc tcc ctc cat | 144 |    |    |
| Phe Ser Leu Pro Gly Asp Phe Leu Leu Ala Gly Leu Phe Ser Leu His |     |    |    |
| 35  | 40  | 45 |    |

gct gac tgt ctg cag gtg aga cac aga cct ctg gtg aca agt tgt gac 192  
 Ala Asp Cys Leu Gln Val Arg His Arg Pro Leu Val Thr Ser Cys Asp  
 50 55 60  
 agg tct gac agc ttc aac ggc cat ggc tat cac ctc ttc caa gcc atg 240  
 Arg Ser Asp Ser Phe Asn Gly His Gly Tyr His Leu Phe Gln Ala Met  
 65 70 75 80  
 cgg ttc acc gtt gag gag ata aac aac tcc aca gct ctg ctt ccc aac 288  
 Arg Phe Thr Val Glu Glu Ile Asn Asn Ser Thr Ala Leu Leu Pro Asn  
 85 90 95  
 atc acc ctg ggg tat gaa ctg tat gac gtg tgc tca gag tct tcc aat 336  
 Ile Thr Leu Gly Tyr Glu Leu Tyr Asp Val Cys Ser Glu Ser Ser Asn  
 100 105 110  
 gtc tat gcc acc ctg agg gtg ccc gcc cag caa ggg aca ggc cac cta 384  
 Val Tyr Ala Thr Leu Arg Val Pro Ala Gln Gln Gly Thr Gly His Leu  
 115 120 125  
 gag atg cag aga gat ctt cgc aac cac tcc tcc aag gtg gtg gca ctc 432  
 Glu Met Gln Arg Asp Leu Arg Asn His Ser Ser Lys Val Val Ala Leu  
 130 135 140  
 att ggg cct gat aac act gac cac gct gtc acc act gct gcc ctg ctg 480  
 Ile Gly Pro Asp Asn Thr Asp His Ala Val Thr Thr Ala Ala Leu Leu  
 145 150 155 160  
 agc cct ttt ctg atg ccc ctg gtc agc tat gag ggc agc agc gtg atc 528  
 Ser Pro Phe Leu Met Pro Leu Val Ser Tyr Glu Ala Ser Ser Val Ile  
 165 170 175  
 ctc agt ggg aag cgc aag ttc ccg tcc ttc ttg cgc acc atc ccc agc 576  
 Leu Ser Gly Lys Arg Lys Phe Pro Ser Phe Leu Arg Thr Ile Pro Ser  
 180 185 190  
 gat aag tac cag gtg gaa gtc ata gtg cgg ctg ctg cag agc ttc ggc 624

Asp Lys Tyr Gln Val Glu Val Ile Val Arg Leu Leu Gln Ser Phe Gly  
 195 200 205  
 tgg gtc tgg atc tcg ctc gtt ggc agc tat ggt gac tac ggg cag ctg 672  
 Trp Val Trp Ile Ser Leu Val Gly Ser Tyr Gly Asp Tyr Gly Gln Leu  
 210 215 220  
 ggc gta cag gcg ctg gag gag ctg gcc act cca cgg ggc atc tgc gtc 720  
 Gly Val Gln Ala Leu Glu Glu Leu Ala Thr Pro Arg Gly Ile Cys Val  
 225 230 235 240  
 gcc ttc aag gac gtg gtg cct ctc tcc gcc cag gcg ggt gac cca agg 768  
 Ala Phe Lys Asp Val Val Pro Leu Ser Ala Gln Ala Gly Asp Pro Arg  
 245 250 255  
 atg cag cgc atg atg ctg cgt ctg gct cga gcc agg acc acc gtg gtc 816  
 Met Gln Arg Met Met Leu Arg Leu Ala Arg Ala Arg Thr Thr Val Val  
 260 265 270  
 gtg gtc ttc tct aac cgg cac ctg gct gga gtg ttc ttc agg tct gtg 864  
 Val Val Phe Ser Asn Arg His Leu Ala Gly Val Phe Phe Arg Ser Val  
 275 280 285  
 gtg ctg gcc aac ctg act ggc aaa gtg tgg atc gcc tcc gaa gac tgg 912  
 Val Leu Ala Asn Leu Thr Gly Lys Val Trp Ile Ala Ser Glu Asp Trp  
 290 295 300  
 gcc atc tcc acg tac atc acc aat gtg ccc ggg atc cag ggc att ggg 960  
 Ala Ile Ser Thr Tyr Ile Thr Asn Val Pro Gly Ile Gln Gly Ile Gly  
 305 310 315 320  
 acg gtg ctg ggg gtg gcc atc cag cag aga caa gtc cct ggc ctg aag 1008  
 Thr Val Leu Gly Val Ala Ile Gln Gln Arg Gln Val Pro Gly Leu Lys  
 325 330 335  
 gag ttt gaa gag tcc tat gtc cag gca gtg atg ggt gct ccc aga act 1056  
 Glu Phe Glu Glu Ser Tyr Val Gln Ala Val Met Gly Ala Pro Arg Thr  
 340 345 350

tgc cca gag ggg tcc tgg tgc ggc act aac cag ctg tgc agg gag tgt 1104  
 Cys Pro Glu Gly Ser Trp Cys Gly Thr Asn Gln Leu Cys Arg Glu Cys  
 355 360 365  
 cac gct ttc acg aca tgg aac atg ccc gag ctt gga gcc ttc tcc atg 1152  
 His Ala Phe Thr Thr Trp Asn Met Pro Glu Leu Gly Ala Phe Ser Met  
 370 375 380  
 agc gct gcc tac aat gtg tat gag gct gtg tat gct gtg gcc cac ggc 1200  
 Ser Ala Ala Tyr Asn Val Tyr Glu Ala Val Tyr Ala Val Ala His Gly  
 385 390 395 400  
 ctc cac cag ctc ctg gga tgt acc tct ggg acc tgt gcc aga ggc cca 1248  
 Leu His Gln Leu Leu Gly Cys Thr Ser Gly Thr Cys Ala Arg Gly Pro  
 405 410 415  
 gtc tac ccc tgg cag ctt ctt cag cag atc tac aag gtg aat ttc ctt 1296  
 Val Tyr Pro Trp Gln Leu Leu Gln Gln Ile Tyr Lys Val Asn Phe Leu  
 420 425 430  
 cta cat aag aag act gta gca ttc gat gac aag ggg gac cct cta ggt 1344  
 Leu His Lys Lys Thr Val Ala Phe Asp Asp Lys Gly Asp Pro Leu Gly  
 435 440 445  
 tat tat gac atc atc gcc tgg gac tgg aat gga cct gaa tgg acc ttt 1392  
 Tyr Tyr Asp Ile Ile Ala Trp Asp Trp Asn Gly Pro Glu Trp Thr Phe  
 450 455 460  
 gag gtc att ggt tct gcc tca ctg tct cca gtt cat cta gac ata aat 1440  
 Glu Val Ile Gly Ser Ala Ser Leu Ser Pro Val His Leu Asp Ile Asn  
 465 470 475 480  
 aag aca aaa atc cag tgg cac ggg aag aac aat cag gtg cct gtg tca 1488  
 Lys Thr Lys Ile Gln Trp His Gly Lys Asn Asn Gln Val Pro Val Ser  
 485 490 495  
 gtg tgt acc agg gac tgt ctc gaa ggg cac cac agg ttg gtc atg ggt 1536  
 Val Cys Thr Arg Asp Cys Leu Glu Gly His His Arg Leu Val Met Gly

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 500   | 505 | 510 |      |
| tcc cac cac tgc tgc ttc gag tgc atg ccc tgt gaa gct ggg aca ttt |     |     | 1584 |
| Ser His His Cys Cys Phe Glu Cys Met Pro Cys Glu Ala Gly Thr Phe |     |     |      |
| 515   | 520 | 525 |      |
| ctc aac acg agt gag ctt cac acc tgc cag cct tgt gga aca gaa gaa |     |     | 1632 |
| Leu Asn Thr Ser Glu Leu His Thr Cys Gln Pro Cys Gly Thr Glu Glu |     |     |      |
| 530   | 535 | 540 |      |
| tgg gcc cct gag ggg agc tca gcc tgc ttc tca cgc acc gtg gag ttc |     |     | 1680 |
| Trp Ala Pro Glu Gly Ser Ser Ala Cys Phe Ser Arg Thr Val Glu Phe |     |     |      |
| 545   | 550 | 555 | 560  |
| ttg ggg tgg cat gaa ccc atc tct ttg gtg cta tta gca gct aac acg |     |     | 1728 |
| Leu Gly Trp His Glu Pro Ile Ser Leu Val Leu Leu Ala Ala Asn Thr |     |     |      |
| 565   | 570 | 575 |      |
| cta ttg ctg ctg ctg ctg att ggg act gct ggc ctg ttt gcc tgg cgt |     |     | 1776 |
| Leu Leu Leu Leu Leu Ile Gly Thr Ala Gly Leu Phe Ala Trp Arg     |     |     |      |
| 580   | 585 | 590 |      |
| ctt cac acg cct gtt gtg agg tca gct ggg ggt agg ctg tgc ttc ctc |     |     | 1824 |
| Leu His Thr Pro Val Val Arg Ser Ala Gly Gly Arg Leu Cys Phe Leu |     |     |      |
| 595   | 600 | 605 |      |
| atg ctg ggt tcc ttg gta gct ggg agt tgc agc ctc tac agc ttc ttc |     |     | 1872 |
| Met Leu Gly Ser Leu Val Ala Gly Ser Cys Ser Leu Tyr Ser Phe Phe |     |     |      |
| 610   | 615 | 620 |      |
| ggg aag ccc acg gtg ccc gcg tgc ttg ctg cgt cag ccc ctc ttt tct |     |     | 1920 |
| Gly Lys Pro Thr Val Pro Ala Cys Leu Leu Arg Gln Pro Leu Phe Ser |     |     |      |
| 625   | 630 | 635 | 640  |
| ctc ggg ttt gcc att ttc ctc tcc tgt ctg aca atc cgc tcc ttc caa |     |     | 1968 |
| Leu Gly Phe Ala Ile Phe Leu Ser Cys Leu Thr Ile Arg Ser Phe Gln |     |     |      |
| 645   | 650 | 655 |      |
| ctg gtc atc atc ttc aag ttt tct acc aag gta ccc aca ttc tac cac |     |     | 2016 |

Leu Val Ile Ile Phe Lys Phe Ser Thr Lys Val Pro Thr Phe Tyr His  
 660 665 670  
 act tgg gcc caa aac cat ggt gcc gga ata ttc gtc att gtc agc tcc 2064  
 Thr Trp Ala Gln Asn His Gly Ala Gly Ile Phe Val Ile Val Ser Ser  
 675 680 685  
 acg gtc cat ttg ttc ctc tgt ctc acg tgg ctt gca atg tgg acc cca 2112  
 Thr Val His Leu Phe Leu Cys Leu Thr Trp Leu Ala Met Trp Thr Pro  
 690 695 700  
 cg~~g~~ ccc acc agg gag tac cag cgc ttc ccc cat ctg gtg att ctt gag 2160  
 Arg Pro Thr Arg Glu Tyr Gln Arg Phe Pro His Leu Val Ile Leu Glu  
 705 710 715 720  
 tgc aca gag gtc aac tct gtg ggc ttc ctg gtg gct ttc gca cac aac 2208  
 Cys Thr Glu Val Asn Ser Val Gly Phe Leu Val Ala Phe Ala His Asn  
 725 730 735  
 atc ctc ctc tcc atc agc acc ttt gtc tgc agc tac ctg ggt aag gaa 2256  
 Ile Leu Leu Ser Ile Ser Thr Phe Val Cys Ser Tyr Leu Gly Lys Glu  
 740 745 750  
 ctg ccg gag aac tat aac gaa gcc aaa tgt gtc acc ttc agc ctg ctc 2304  
 Leu Pro Glu Asn Tyr Asn Glu Ala Lys Cys Val Thr Phe Ser Leu Leu  
 755 760 765  
 ctc cac ttc gta tcc tgg atc gct ttc acc atg tcc agc att tac 2352  
 Leu His Phe Val Ser Trp Ile Ala Phe Phe Thr Met Ser Ser Ile Tyr  
 770 775 780  
 cag ggc agc tac cta ccc gcg gtc aat gtg ctg gca ggg ctg gcc act 2400  
 Gln Gly Ser Tyr Leu Pro Ala Val Asn Val Leu Ala Gly Leu Ala Thr  
 785 790 795 800  
 ctg agt ggc ggc ttc agc ggc tat ttc ctc cct aaa tgc tac gtg att 2448  
 Leu Ser Gly Gly Phe Ser Gly Tyr Phe Leu Pro Lys Cys Tyr Val Ile  
 805 810 815

ctc tgc cgt cca gaa ctc aac aac aca gaa cac ttt cag gcc tcc atc 2496  
 Leu Cys Arg Pro Glu Leu Asn Asn Thr Glu His Phe Gln Ala Ser Ile  
 820 825 830  
 cag gac tac acg agg cgc tgc ggc act acc tga  
 Gln Asp Tyr Thr Arg Arg Cys Gly Thr Thr  
 835 840

<210> 17

<211> 2532

<212> DNA

<213> mouse

<300>

<308>GENBANK AY032623

<400> 17

atg gga ccc cag gcg agg aca ctc cat ttg ctg ttt ctc ctg ctg cat 48  
 Met Gly Pro Gln Ala Arg Thr Leu His Leu Leu Phe Leu Leu His  
 1 5 10 15

gct ctg cct aag cca gtc atg ctg gta ggg aac tcc gac ttt cac ctg 96  
 Ala Leu Pro Lys Pro Val Met Leu Val Gly Asn Ser Asp Phe His Leu  
 20 25 30

gct ggg gac tac ctc ctg ggt ggc ctc ttt acc ctc cat gcc aac gtg 144  
 Ala Gly Asp Tyr Leu Leu Gly Gly Leu Phe Thr Leu His Ala Asn Val  
 35 40 45

aag agt gtc tct cac ctc agc tac ctg cag gtg ccc aag tgc aat gag 192  
 Lys Ser Val Ser His Leu Ser Tyr Leu Gln Val Pro Lys Cys Asn Glu  
 50 55 60

tac aac atg aag gtg ttg ggc tac aac ctc atg cag gcc atg cga ttc 240

Tyr Asn Met Lys Val Leu Gly Tyr Asn Leu Met Gln Ala Met Arg Phe  
 65 70 75 80  
 gcc gtg gag gaa atc aac aac tgt agc tct ttg ctg ccc ggc gtg ctg 288  
 Ala Val Glu Glu Ile Asn Asn Cys Ser Ser Leu Leu Pro Gly Val Leu  
 85 90 95  
 ctc ggc tac gag atg gtg gat gtc tgc tac ctc tcc aac aat atc cag 336  
 Leu Gly Tyr Glu Met Val Asp Val Cys Tyr Leu Ser Asn Asn Ile Gln  
 100 105 110  
 cct ggg ctc tac ttc ctg tca cag ata gat gac ttc ctg ccc atc ctc 384  
 Pro Gly Leu Tyr Phe Leu Ser Gln Ile Asp Asp Phe Leu Pro Ile Leu  
 115 120 125  
 aaa gac tac agc cag tac agg ccc caa gtg gtg gct gtt att ggc cca 432  
 Lys Asp Tyr Ser Gln Tyr Arg Pro Gln Val Val Ala Val Ile Gly Pro  
 130 135 140  
 gac aac tct gag tct gcc atc acc gtg tcc aac att ctc tcc tac ttc 480  
 Asp Asn Ser Glu Ser Ala Ile Thr Val Ser Asn Ile Leu Ser Tyr Phe  
 145 150 155 160  
 ctc gtg cca cag gtc aca tat agc gcc atc acc gac aag ctg caa gac 528  
 Leu Val Pro Gln Val Thr Tyr Ser Ala Ile Thr Asp Lys Leu Gln Asp  
 165 170 175  
 aag cgg cgc ttc cct gcc atg ctg cgc act gtg ccc agc gcc acc cac 576  
 Lys Arg Arg Phe Pro Ala Met Leu Arg Thr Val Pro Ser Ala Thr His  
 180 185 190  
 cac atc gag gcc atg gtg caa ctg atg gtt cac ttc cag tgg aac tgg 624  
 His Ile Glu Ala Met Val Gln Leu Met Val His Phe Gln Trp Asn Trp  
 195 200 205  
 atc gtg gtg ctg gtg agc gat gac gat tat ggc cga gag aac agc cac 672  
 Ile Val Val Leu Val Ser Asp Asp Asp Tyr Gly Arg Glu Asn Ser His  
 210 215 220

ctg ctg agc cag cgt ctg acc aac act ggc gac atc tgc att gcc ttc 720  
 Leu Leu Ser Gln Arg Leu Thr Asn Thr Gly Asp Ile Cys Ile Ala Phe  
 225 230 235 240  
 cag gag gtt ctg ccc gta cca gaa ccc aac cag gct gtg agg cct gag 768  
 Gln Glu Val Leu Pro Val Pro Glu Pro Asn Gln Ala Val Arg Pro Glu  
 245 250 255  
 gag cag gac caa ctg gac aac atc ctg gac aag ctg cgg cgg act tcg 816  
 Glu Gln Asp Gln Leu Asp Asn Ile Leu Asp Lys Leu Arg Arg Thr Ser  
 260 265 270  
 gcg cgt gtg gtg gtg ata ttc tcg ccg gag ctg agc ctg cac aac ttc 864  
 Ala Arg Val Val Val Ile Phe Ser Pro Glu Leu Ser Leu His Asn Phe  
 275 280 285  
 ttc cgt gag gtg ctg cgc tgg aac ttc acg ggc ttt gtg tgg att gcc 912  
 Phe Arg Glu Val Leu Arg Trp Asn Phe Thr Gly Phe Val Trp Ile Ala  
 290 295 300  
 tct gag tcc tgg gcc atc gac cct gtt cta cac aac ctc aca gag ctg 960  
 Ser Glu Ser Trp Ala Ile Asp Pro Val Leu His Asn Leu Thr Glu Leu  
 305 310 315 320  
 cgc cac acg ggc act ttc ctg ggt gtc acc atc cag agg gtg tcc atc 1008  
 Arg His Thr Gly Thr Phe Leu Gly Val Thr Ile Gln Arg Val Ser Ile  
 325 330 335  
 cct ggc ttc agc cag ttc cga gtg cgc cat gac aag cca ggg tat cgc 1056  
 Pro Gly Phe Ser Gln Phe Arg Val Arg His Asp Lys Pro Gly Tyr Arg  
 340 345 350  
 atg cct aac gag acc agc ctg cgg act acc tgt aac cag gac tgc gac 1104  
 Met Pro Asn Glu Thr Ser Leu Arg Thr Thr Cys Asn Gln Asp Cys Asp  
 355 360 365  
 gcc tgc atg aac atc act gag tcc ttc aac aac gtt ctc atg ctt tcg 1152  
 Ala Cys Met Asn Ile Thr Glu Ser Phe Asn Asn Val Leu Met Leu Ser

|  |     |     |     |
|--|-----|-----|-----|
| 370  | 375 | 380 |     |
| ggg gag cgt gtg gtc tac agc gtg tac tcg gcc gtc tac gcg gtg gcc 1200 |     |     |     |
| Gly Glu Arg Val Val Tyr Ser Val Tyr Ser Ala Val Tyr Ala Val Ala      |     |     |     |
| 385  | 390 | 395 | 400 |
| cac acc ctc cac aga ctc ctc cac tgc aat cag gtc cgc tgc acc aag 1248 |     |     |     |
| His Thr Leu His Arg Leu Leu His Cys Asn Gln Val Arg Cys Thr Lys      |     |     |     |
| 405  | 410 | 415 |     |
| caa atc gtc tat cca tgg cag cta ctc agg gag atc tgg cat gtc aac 1296 |     |     |     |
| Gln Ile Val Tyr Pro Trp Gln Leu Leu Arg Glu Ile Trp His Val Asn      |     |     |     |
| 420  | 425 | 430 |     |
| ttc acg ctc ctg ggc aac cag ctc ttc ttc gac gaa caa ggg gac atg 1344 |     |     |     |
| Phe Thr Leu Leu Gly Asn Gln Leu Phe Phe Asp Glu Gln Gly Asp Met      |     |     |     |
| 435  | 440 | 445 |     |
| ccg atg ctc ctg gac atc atc cag tgg cag tgg ggc ctg agc cag aac 1392 |     |     |     |
| Pro Met Leu Leu Asp Ile Ile Gln Trp Gln Trp Gly Leu Ser Gln Asn      |     |     |     |
| 450  | 455 | 460 |     |
| ccc ttc caa agc atc gcc tcc tac tcc ccc acc gag acg agg ctg acc 1440 |     |     |     |
| Pro Phe Gln Ser Ile Ala Ser Tyr Ser Pro Thr Glu Thr Arg Leu Thr      |     |     |     |
| 465  | 470 | 475 | 480 |
| tac att agc aat gtg tcc tgg tac acc ccc aac aac acg gtc ccc ata 1488 |     |     |     |
| Tyr Ile Ser Asn Val Ser Trp Tyr Thr Pro Asn Asn Thr Val Pro Ile      |     |     |     |
| 485  | 490 | 495 |     |
| tcc atg tgt tct aag agt tgc cag cct ggg caa atg aaa aaa ccc ata 1536 |     |     |     |
| Ser Met Cys Ser Lys Ser Cys Gln Pro Gly Gln Met Lys Lys Pro Ile      |     |     |     |
| 500  | 505 | 510 |     |
| ggc ctc cac cca tgc tgc ttc gag tgt gtg gac tgt ccg ccg gac acc 1584 |     |     |     |
| Gly Leu His Pro Cys Cys Phe Glu Cys Val Asp Cys Pro Pro Asp Thr      |     |     |     |
| 515  | 520 | 525 |     |
| tac ctc aac cga tca gta gat gag ttt aac tgt ctg tcc tgc ccg ggt 1632 |     |     |     |

Tyr Leu Asn Arg Ser Val Asp Glu Phe Asn Cys Leu Ser Cys Pro Gly  
 530 535 540  
 tcc atg tgg tct tac aag aac aac atc gct tgc ttc aag cgg cgg ctg 1680  
 Ser Met Trp Ser Tyr Lys Asn Asn Ile Ala Cys Phe Lys Arg Arg Leu  
 545 550 555 560  
 gcc ttc ctg gag tgg cac gaa gtg ccc act atc gtg gtg acc atc ctg 1728  
 Ala Phe Leu Glu Trp His Glu Val Pro Thr Ile Val Val Thr Ile Leu  
 565 570 575  
 gcc gcc ctg ggc ttc atc agt acg ctg gcc att ctg ctc atc ttc tgg 1776  
 Ala Ala Leu Gly Phe Ile Ser Thr Leu Ala Ile Leu Leu Ile Phe Trp  
 580 585 590  
 aga cat ttc cag acg ccc atg gtg cgc tcg gcg ggc ccc atg tgc 1824  
 Arg His Phe Gln Thr Pro Met Val Arg Ser Ala Gly Gly Pro Met Cys  
 595 600 605  
 ttc ctg atg ctg gtg ccc ctg ctg ctg gcg ttc ggg atg gtc ccc gtg 1872  
 Phe Leu Met Leu Val Pro Leu Leu Ala Phe Gly Met Val Pro Val  
 610 615 620  
 tat gtg ggc ccc ccc acg gtc ttc tcc tgt ttc tgc cgc cag gct ttc 1920  
 Tyr Val Gly Pro Pro Thr Val Phe Ser Cys Phe Cys Arg Gln Ala Phe  
 625 630 635 640  
 ttc acc gtt tgc ttc tcc gtc tgc ctc tcc tgc atc acg gtg cgc tcc 1968  
 Phe Thr Val Cys Phe Ser Val Cys Leu Ser Cys Ile Thr Val Arg Ser  
 645 650 655  
 ttc cag att gtg tgc gtc ttc aag atg gcc aga cgc ctg cca agc gcc 2016  
 Phe Gln Ile Val Cys Val Phe Lys Met Ala Arg Arg Leu Pro Ser Ala  
 660 665 670  
 tac ggt ttc tgg atg cgt tac cac ggg ccc tac gtc ttc gtg gcc ttc 2064  
 Tyr Gly Phe Trp Met Arg Tyr His Gly Pro Tyr Val Phe Val Ala Phe  
 675 680 685

atc acg gcc gtc aag gtg gcc ctg gtg gcg ggc aac atg ctg gcc acc 2112  
 Ile Thr Ala Val Lys Val Ala Leu Val Ala Gly Asn Met Leu Ala Thr  
 690 695 700  
 acc atc aac ccc att ggc cggt acc gac ccc gat gac ccc aat atc ata 2160  
 Thr Ile Asn Pro Ile Gly Arg Thr Asp Pro Asp Asp Pro Asn Ile Ile  
 705 710 715 720  
 atc ctc tcc tgc cac cct aac tac cggt aac ggg cta ctc ttc aac acc 2208  
 Ile Leu Ser Cys His Pro Asn Tyr Arg Asn Gly Leu Leu Phe Asn Thr  
 725 730 735  
 agc atg gac ttg ctg ctg tcc gtg ctg ggt ttc agc ttc gcg tac gtg 2256  
 Ser Met Asp Leu Leu Ser Val Leu Gly Phe Ser Phe Ala Tyr Val  
 740 745 750  
 ggc aag gaa ctg ccc acc aac tac aac gaa gcc aag ttc atc acc ctc 2304  
 Gly Lys Glu Leu Pro Thr Asn Tyr Asn Glu Ala Lys Phe Ile Thr Leu  
 755 760 765  
 agc atg acc ttc tcc ttc acc tcc tcc atc tcc ctc tgc acg ttc atg 2352  
 Ser Met Thr Phe Ser Phe Thr Ser Ser Ile Ser Leu Cys Thr Phe Met  
 770 775 780  
 tct gtc cac gat ggc gtg ctg gtc acc atc atg gat ctc ctg gtc act 2400  
 Ser Val His Asp Gly Val Leu Val Thr Ile Met Asp Leu Leu Val Thr  
 785 790 795 800  
 gtg ctc aac ttt ctg gcc atc ggc ttg ggg tac ttt ggc ccc aaa tgt 2448  
 Val Leu Asn Phe Leu Ala Ile Gly Leu Gly Tyr Phe Gly Pro Lys Cys  
 805 810 815  
 tac atg atc ctt ttc tac ccg gag cggt aac act tca gct tat ttc aat 2496  
 Tyr Met Ile Leu Phe Tyr Pro Glu Arg Asn Thr Ser Ala Tyr Phe Asn  
 820 825 830  
 agc atg att cag ggc tac acg atg agg aag agc tag  
 Ser Met Ile Gln Gly Tyr Thr Met Arg Lys Ser

835

840

&lt;210&gt; 18

&lt;211&gt; 2577

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; mouse

&lt;300&gt;

&lt;308&gt;GENBANK AY032621

&lt;400&gt; 18

|   |     |
|---|-----|
| atg cca gct ttg gct atc atg ggt ctc agc ctg gct gct ttc ctg gag | 48  |
| Met Pro Ala Leu Ala Ile Met Gly Leu Ser Leu Ala Ala Phe Leu Glu |     |
| 1 5 10 15   |     |
| ctt ggg atg ggg gcc tct ttg tgt ctg tca cag caa ttc aag gca caa | 96  |
| Leu Gly Met Gly Ala Ser Leu Cys Leu Ser Gln Gln Phe Lys Ala Gln |     |
| 20 25 30  |     |
| ggg gac tac ata ctg ggc ggg cta ttt ccc ctg ggc tca acc gag gag | 144 |
| Gly Asp Tyr Ile Leu Gly Gly Leu Phe Pro Leu Gly Ser Thr Glu Glu |     |
| 35 40 45  |     |
| gcc act ctc aac cag aga aca caa ccc aac agc atc ccg tgc aac agg | 192 |
| Ala Thr Leu Asn Gln Arg Thr Gln Pro Asn Ser Ile Pro Cys Asn Arg |     |
| 50 55 60  |     |
| ttc tca ccc ctt ggt ttg ttc ctg gcc atg gct atg aag atg gct gtg | 240 |
| Phe Ser Pro Leu Gly Leu Phe Leu Ala Met Ala Met Lys Met Ala Val |     |
| 65 70 75 80   |     |
| gag gag atc aac aat gga tct gcc ttg ctc cct ggg ctg cgg ctg ggc | 288 |
| Glu Glu Ile Asn Asn Gly Ser Ala Leu Leu Pro Gly Leu Arg Leu Gly |     |

|   |     |     |     |
|---|-----|-----|-----|
| 85  | 90  | 95  |     |
| tat gac cta ttt gac aca tgc tcc gag cca gtg gtc acc atg aaa tcc |     |     | 336 |
| Tyr Asp Leu Phe Asp Thr Cys Ser Glu Pro Val Val Thr Met Lys Ser |     |     |     |
| 100   | 105 | 110 |     |
| agt ctc atg ttc ctg gcc aag gtg ggc agt caa agc att gct gcc tac |     |     | 384 |
| Ser Leu Met Phe Leu Ala Lys Val Gly Ser Gln Ser Ile Ala Ala Tyr |     |     |     |
| 115   | 120 | 125 |     |
| tgc aac tac aca cag tac caa ccc cgt gtg ctg gct gtc atc ggc ccc |     |     | 432 |
| Cys Asn Tyr Thr Gln Tyr Gln Pro Arg Val Leu Ala Val Ile Gly Pro |     |     |     |
| 130   | 135 | 140 |     |
| cac tca tca gag ctt gcc ctc att aca ggc aag ttc ttc agc ttc ttc |     |     | 480 |
| His Ser Ser Glu Leu Ala Leu Ile Thr Gly Lys Phe Phe Ser Phe Phe |     |     |     |
| 145   | 150 | 155 | 160 |
| ctc atg cca cag gtc agc tat agt gcc agc atg gat cgg cta agt gac |     |     | 528 |
| Leu Met Pro Gln Val Ser Tyr Ser Ala Ser Met Asp Arg Leu Ser Asp |     |     |     |
| 165   | 170 | 175 |     |
| cgg gaa acg ttt cca tcc ttc cgc aca gtg ccc agt gac cgg gtg     |     |     | 576 |
| Arg Glu Thr Phe Pro Ser Phe Phe Arg Thr Val Pro Ser Asp Arg Val |     |     |     |
| 180   | 185 | 190 |     |
| cag ctg cag gca gtt gtg act ctg ttg cag aac ttc agc tgg aac tgg |     |     | 624 |
| Gln Leu Gln Ala Val Val Thr Leu Leu Gln Asn Phe Ser Trp Asn Trp |     |     |     |
| 195   | 200 | 205 |     |
| gtg gcc gcc tta ggg agt gat gat gac tat ggc cgg gaa ggt ctg agc |     |     | 672 |
| Val Ala Ala Leu Gly Ser Asp Asp Asp Tyr Gly Arg Glu Gly Leu Ser |     |     |     |
| 210   | 215 | 220 |     |
| atc ttt tct agt ctg gcc aat gca cga ggt atc tgc atc gca cat gag |     |     | 720 |
| Ile Phe Ser Ser Leu Ala Asn Ala Arg Gly Ile Cys Ile Ala His Glu |     |     |     |
| 225   | 230 | 235 | 240 |
| ggc ctg gtg cca caa cat gac act agt ggc caa cag ttg ggc aag gtg |     |     | 768 |

Gly Leu Val Pro Gln His Asp Thr Ser Gly Gln Gln Leu Gly Lys Val  
 245 250 255  
 ctg gat gta cta cgc caa gtc aac caa agt aaa gta caa gtc gtc gtc gtc 816  
 Leu Asp Val Leu Arg Gln Val Asn Gln Ser Lys Val Gln Val Val Val  
 260 265 270  
 ctg ttt gcc tct gcc cgt gct gtc tac tcc ctt ttt agt tac agc atc 864  
 Leu Phe Ala Ser Ala Arg Ala Val Tyr Ser Leu Phe Ser Tyr Ser Ile  
 275 280 285  
 cat cat ggc ctc tca ccc aag gta tgg gtc gcc agt gag tct tgg ctg 912  
 His His Gly Leu Ser Pro Lys Val Trp Val Ala Ser Glu Ser Trp Leu  
 290 295 300  
 aca tct gac ctg gtc atg aca ctt ccc aat att gcc cgt gtc ggc act 960  
 Thr Ser Asp Leu Val Met Thr Leu Pro Asn Ile Ala Arg Val Gly Thr  
 305 310 315 320  
 gtc ctt ggg ttt ttg cag cgg ggt gcc cta ctg cct gaa ttt tcc cat 1008  
 Val Leu Gly Phe Leu Gln Arg Gly Ala Leu Leu Pro Glu Phe Ser His  
 325 330 335  
 tat gtg gag act cac ctt gcc ctg gcc gct gac cca gca ttc tgt gcc 1056  
 Tyr Val Glu Thr His Leu Ala Leu Ala Asp Pro Ala Phe Cys Ala  
 340 345 350  
 tca ctg aat gcg gag ttg gat ctg gag gaa cat gtg atg ggg caa cgc 1104  
 Ser Leu Asn Ala Glu Leu Asp Leu Glu Glu His Val Met Gly Gln Arg  
 355 360 365  
 tgt cca cgg tgt gac gac atc atg ctg cag aac cta tca tct ggg ctg 1152  
 Cys Pro Arg Cys Asp Asp Ile Met Leu Gln Asn Leu Ser Ser Gly Leu  
 370 375 380  
 ttg cag aac cta tca gct ggg caa ttg cac cac caa ata ttt gca acc 1200  
 Leu Gln Asn Leu Ser Ala Gly Gln Leu His His Gln Ile Phe Ala Thr  
 385 390 395 400

tat gca gct gtg tac agt gtg gct caa gcc ctt cac aac acc cta cag 1248  
 Tyr Ala Ala Val Tyr Ser Val Ala Gln Ala Leu His Asn Thr Leu Gln  
 405 410 415  
 tgc aat gtc tca cat tgc cac gta tca gaa cat gtt cta ccc tgg cag 1296  
 Cys Asn Val Ser His Cys His Val Ser Glu His Val Leu Pro Trp Gln  
 420 425 430  
 ctc ctg gag aac atg tac aat atg agt ttc cat gct cga gac ttg aca 1344  
 Leu Leu Glu Asn Met Tyr Asn Met Ser Phe His Ala Arg Asp Leu Thr  
 435 440 445  
 cta cag ttt gat gct gaa ggg aat gta gac atg gaa tat gac ctg aag 1392  
 Leu Gln Phe Asp Ala Glu Gly Asn Val Asp Met Glu Tyr Asp Leu Lys  
 450 455 460  
 atg tgg gtg tgg cag agc cct aca cct gta tta cat act gtg ggc acc 1440  
 Met Trp Val Trp Gln Ser Pro Thr Pro Val Leu His Thr Val Gly Thr  
 465 470 475 480  
 ttc aac ggc acc ctt cag ctg cag cag tct aaa atg tac tgg cca ggc 1488  
 Phe Asn Gly Thr Leu Gln Leu Gln Ser Lys Met Tyr Trp Pro Gly  
 485 490 495  
 aac cag gtg cca gtc tcc cag tgt tcc cgc cag tgc aaa gat ggc cag 1536  
 Asn Gln Val Pro Val Ser Gln Cys Ser Arg Gln Cys Lys Asp Gly Gln  
 500 505 510  
 gtt cgc cga gta aag ggc ttt cat tcc tgc tgc tat gac tgc gtg gac 1584  
 Val Arg Arg Val Lys Gly Phe His Ser Cys Cys Tyr Asp Cys Val Asp  
 515 520 525  
 tgc aag gcg ggc agc tac cgg aag cat cca gat gac ttc acc tgt act 1632  
 Cys Lys Ala Gly Ser Tyr Arg Lys His Pro Asp Asp Phe Thr Cys Thr  
 530 535 540  
 cca tgt aac cag gac cag tgg tcc cca gag aaa agc aca gcc tgc tta 1680  
 Pro Cys Asn Gln Asp Gln Trp Ser Pro Glu Lys Ser Thr Ala Cys Leu

|   |     |     |     |      |
|---|-----|-----|-----|------|
| 545   | 550 | 555 | 560 |      |
| cct cgc agg ccc aag ttt ctg gct tgg ggg gag cca gtt gtg ctg tca |     |     |     | 1728 |
| Pro Arg Arg Pro Lys Phe Leu Ala Trp Gly Glu Pro Val Val Leu Ser |     |     |     |      |
| 565   | 570 | 575 |     |      |
| ctc ctc ctg ctg ctt tgc ctg gtg ggt cta gca ctg gct gct ctg     |     |     |     | 1776 |
| Leu Leu Leu Leu Cys Leu Val Leu Gly Leu Ala Leu Ala Leu         |     |     |     |      |
| 580   | 585 | 590 |     |      |
| ggg ctc tct gtc cac cac tgg gac agc cct ctt gtc cag gcc tca ggt |     |     |     | 1824 |
| Gly Leu Ser Val His His Trp Asp Ser Pro Leu Val Gln Ala Ser Gly |     |     |     |      |
| 595   | 600 | 605 |     |      |
| ggc tca cag ttc tgc ttt ggc ctg atc tgc cta ggc ctc ttc tgc ctc |     |     |     | 1872 |
| Gly Ser Gln Phe Cys Phe Gly Leu Ile Cys Leu Gly Leu Phe Cys Leu |     |     |     |      |
| 610   | 615 | 620 |     |      |
| agt gtc ctt ctg ttc cca ggg cgg cca agc tct gcc agc tgc ctt gca |     |     |     | 1920 |
| Ser Val Leu Leu Phe Pro Gly Arg Pro Ser Ser Ala Ser Cys Leu Ala |     |     |     |      |
| 625   | 630 | 635 | 640 |      |
| caa caa cca atg gct cac ctc cct ctc aca ggc tgc ctg agc aca ctc |     |     |     | 1968 |
| Gln Gln Pro Met Ala His Leu Pro Leu Thr Gly Cys Leu Ser Thr Leu |     |     |     |      |
| 645   | 650 | 655 |     |      |
| ttc ctg caa gca gct gag acc ttt gtg gag tct gag ctg cca ctg agc |     |     |     | 2016 |
| Phe Leu Gln Ala Ala Glu Thr Phe Val Glu Ser Glu Leu Pro Leu Ser |     |     |     |      |
| 660   | 665 | 670 |     |      |
| tgg gca aac tgg cta tgc agc tac ctt cgg gga ctc tgg gcc tgg cta |     |     |     | 2064 |
| Trp Ala Asn Trp Leu Cys Ser Tyr Leu Arg Gly Leu Trp Ala Trp Leu |     |     |     |      |
| 675   | 680 | 685 |     |      |
| gtg gta ctg ttg gcc act ttt gtg gag gca gca cta tgt gcc tgg tat |     |     |     | 2112 |
| Val Val Leu Leu Ala Thr Phe Val Glu Ala Ala Leu Cys Ala Trp Tyr |     |     |     |      |
| 690   | 695 | 700 |     |      |
| ttg aac gct ttc cca cca gag gtg gtg aca gac tgg tca gtg ctg ccc |     |     |     | 2160 |

Leu Asn Ala Phe Pro Pro Glu Val Val Thr Asp Trp Ser Val Leu Pro  
 705 710 715 720  
 aca gag gta ctg gag cac tgc cac gtg cgt tcc tgg gtc agc ctg ggc 2208  
 Thr Glu Val Leu Glu His Cys His Val Arg Ser Trp Val Ser Leu Gly  
 725 730 735  
 ttg gtg cac atc acc aat gca atg tta gct ttc ctc tgc ttt ctg ggc 2256  
 Leu Val His Ile Thr Asn Ala Met Leu Ala Phe Leu Cys Phe Leu Gly  
 740 745 750  
 act ttc ctg gta cag agc cag cct ggc cgc tac aac cgt gcc cgt ggt 2304  
 Thr Phe Leu Val Gln Ser Gln Pro Gly Arg Tyr Asn Arg Ala Arg Gly  
 755 760 765  
 ctc acc ttc gcc atg cta gct tat ttc atc acc tgg gtc tct ttt gtg 2352  
 Leu Thr Phe Ala Met Leu Ala Tyr Phe Ile Thr Trp Val Ser Phe Val  
 770 775 780  
 ccc ctc ctg gcc aat gtg cag gtg gcc tac cag cca gct gtg cag atg 2400  
 Pro Leu Leu Ala Asn Val Gln Val Ala Tyr Gln Pro Ala Val Gln Met  
 785 790 795 800  
 ggt gct atc cta gtc tgt gcc ctg ggc atc ctg gtc acc ttc cac ctg 2448  
 Gly Ala Ile Leu Val Cys Ala Leu Gly Ile Leu Val Thr Phe His Leu  
 805 810 815  
 ccc aag tgc tat gtg ctt ctt tgg ctg cca aag ctc aac acc cag gag 2496  
 Pro Lys Cys Tyr Val Leu Leu Trp Leu Pro Lys Leu Asn Thr Gln Glu  
 820 825 830  
 ttc ttc ctg gga agg aat gcc aag aaa gca gca gat gag aac agt ggc 2544  
 Phe Phe Leu Gly Arg Asn Ala Lys Lys Ala Ala Asp Glu Asn Ser Gly  
 835 840 845  
 ggt ggt gag gca gct cag gga cac aat gaa tga  
 Gly Gly Glu Ala Ala Gln Gly His Asn Glu  
 850 855

<210> 19

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 19

ggaattcatg ctttctggg cagtcacc

<210> 20

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 20

gcattacgat gcggccgctc aggttagtgcc gcagcgcc

<210> 21

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 21

ggaattcatg ggacccagg cgaggac

<210> 22

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 22

gcattacgat gcggccgcct agctcttcct catcgtgtag

<210> 23

<211> 29

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 23

ggaattcatg ccagcttgg ctatcatgg

<210> 24

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 24

gcattacgat gcggccgcctc attcatttg ttcctgagct g

### 【図面の簡単な説明】

【図1】本発明によるG蛋白質 $\alpha$ サブユニット $\alpha$ 15及び $\alpha$ 16/Z共発現ベクターの構造を示す。

【図2】本発明によるT1R3蛋白質発現ベクターの構造を示す。

### 【符号の説明】

E F 1 p r o m o t e r : 延長因子プロモーター

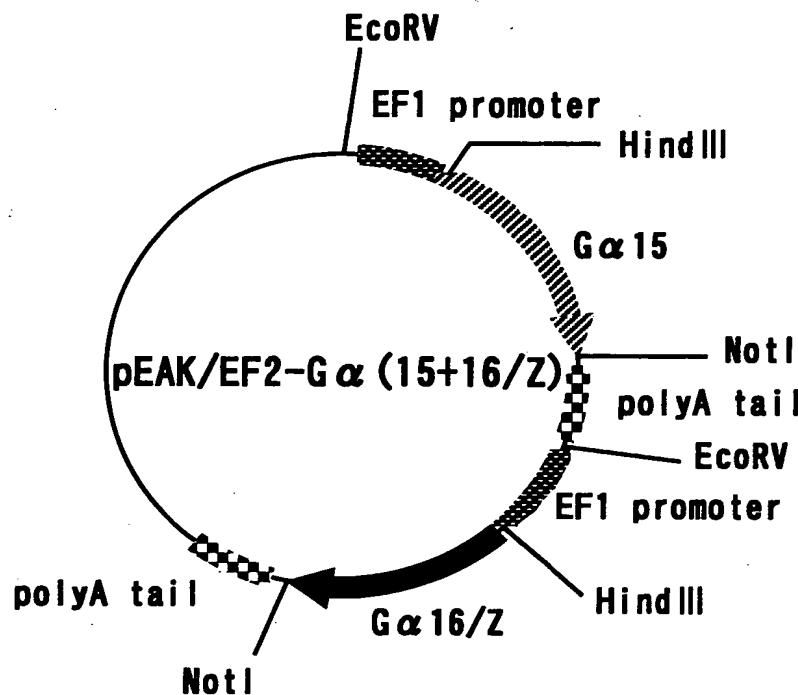
G  $\alpha$  1 5 : G蛋白質 $\alpha$ サブユニット $\alpha$ 15

p o l y A t a i l : ポリA付加シグナル

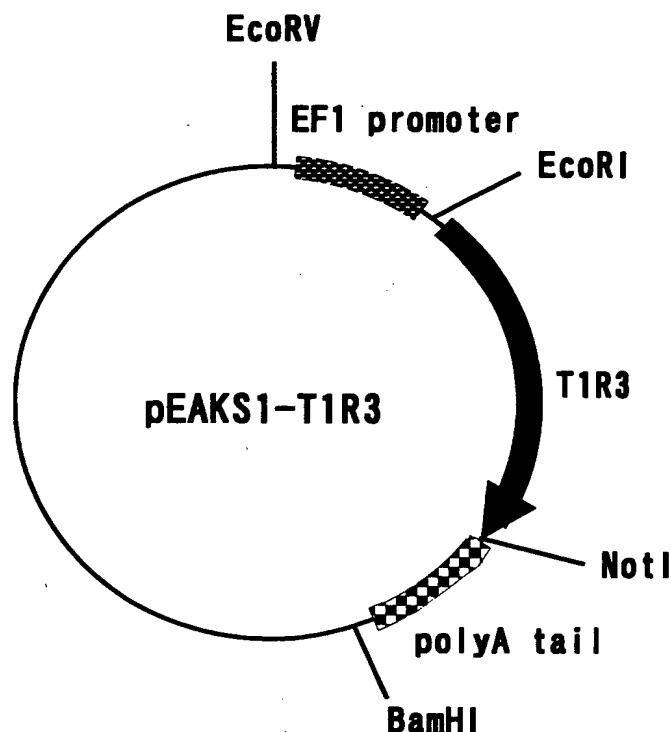
G  $\alpha$  1 6 / Z : G蛋白質 $\alpha$ サブユニット $\alpha$ 16/Zキメラ蛋白質

【書類名】 図面

【図1】



【図2】



特2002-321887

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 哺乳動物におけるトレハロース受容体を解明し、それを用いて、抽出精製工程や誘導体化を必要とせず、試料中のトレハロースを直接的にかつ容易に検出する方法を提供することを課題とする。

【解決方法】 配列表における配列番号1、2、3及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質、又は、配列表における配列番号1、4及び5に示すアミノ酸配列を有する蛋白質からなる哺乳動物のトレハロース受容体、又はそれを発現させた動物細胞によるトレハロース検出方法を提供することにより課題を解決する。

【選択図】 なし

認定・付加情報

|         |               |
|---------|---------------|
| 特許出願の番号 | 特願2002-321887 |
| 受付番号    | 50201671294   |
| 書類名     | 特許願           |
| 担当官     | 鈴木 夏生 6890    |
| 作成日     | 平成15年 1月 6日   |

＜認定情報・付加情報＞

【提出日】 平成14年11月 5日

次頁無

出願人履歴情報

識別番号 [000155908]

1. 変更年月日 1998年10月21日

[変更理由] 住所変更

住 所 岡山県岡山市下石井1丁目2番3号

氏 名 株式会社林原生物化学研究所